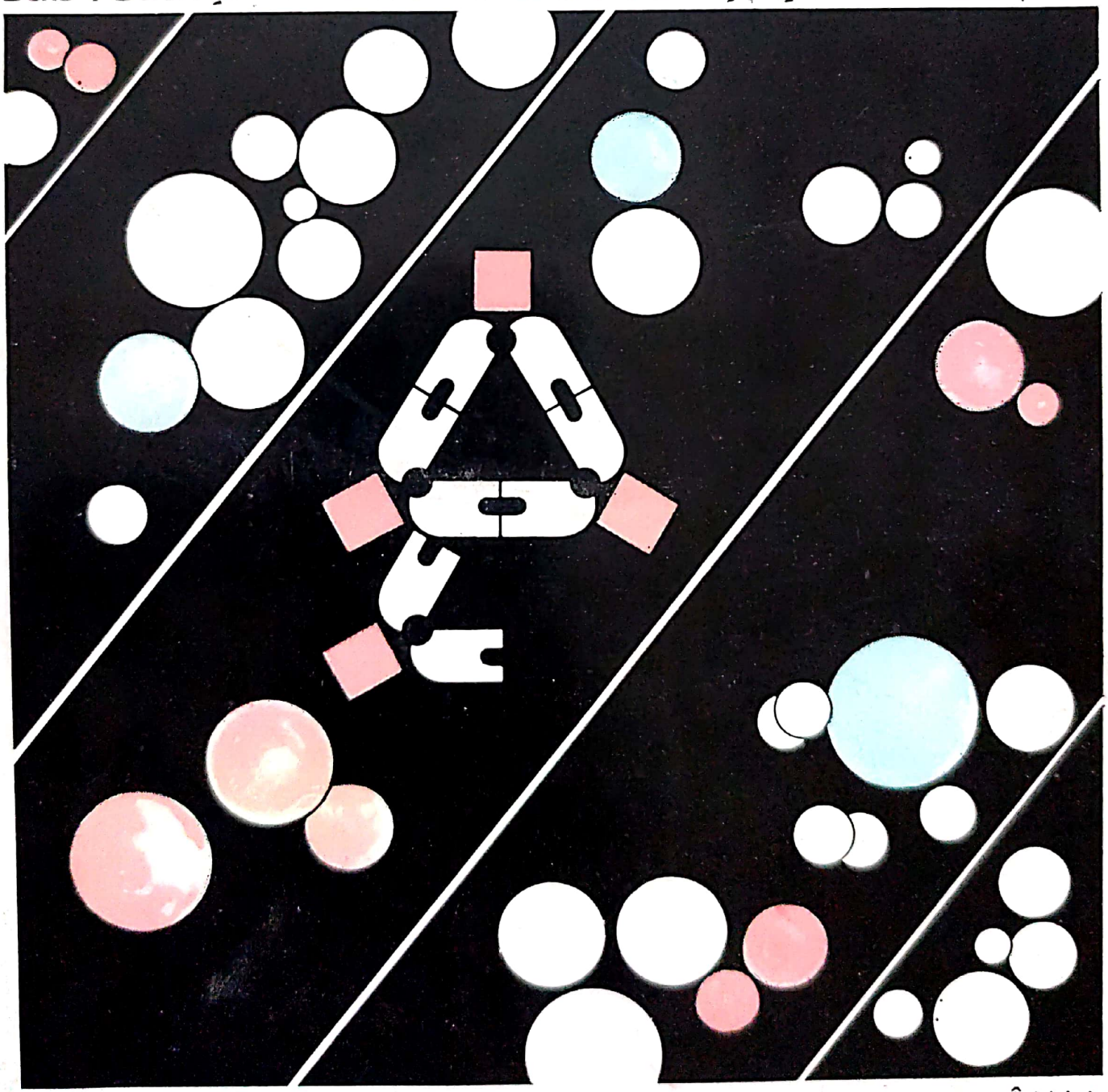
imunobiologie
imunochimie
imunopatologie

sub redacția : I. MESROBEANU și ȘT. BERCEANU



EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA

Scanned with OKEN Scanner

„Imunologia, cu cele trei ramuri principale ale sale : imunobiologia, imunochimia și imunopatologia, a beneficiat în ultimii ani de o dezvoltare impetuoasă, dobîndind un loc principal printre disciplinele biologice actuale.

Imunitatea, considerată inițial ca ansamblul mecanismelor — moștenite sau dobîndite — care concură la apărarea organismului contra infecțiilor, a înglobat astăzi fenomene fiziologice și patologice în aparență foarte disparate, dar care au în comun caracterul de „răspuns imun" la contactul cu antigenul. Serodiagnosticul, intradermoreacția, proliferarea limfocitară *in vitro* etc. au devenit nu numai mijloace de identificare și urmărire a bolilor infecto-contagioase, dar și instrumente de bază în taxonomia generală, în medicina legală și în foarte variate domenii medicale, unde permit : identificarea grupelor sanguine, precizarea noțiunilor de specificitate individuală și de organ, de histocompatibilitate, de boală autoimună, de reactivitate antitumorală etc.

Precizarea aspectelor *imunochimice* de bază — structura antigenelor și anticorpilor, mecanismelor reacției antigen-anticorp — precum și identificarea *imunobiologică* a două linii distincte (T și B) de limfocite ca principalele celule implicate în reacțiile imune, au permis o aprofundare deosebită a funcționalității sistemului imunitar, asigurînd noțiunile de bază necesare pentru dezvoltarea *imunopatologiei*.

Sîntem astăzi în posesia cunoștințelor necesare pentru a asigura o manipulare concretă a diferitelor particularități imunologice în favoarea bolnavilor cu infecții variate, boli autoimune, cancer, grefe de organ sau stări de deficiență imună".

Scanned with OKEN Scanner

GHEȚIE VICTOR, MICUȘAN VALERIU, *Analiza imunochimică. Teorie și practică*, 1966.

BERCEANU ȘT., GOCIU MARIANA, RĂILEANU-MOȚOIU IOANA, *Biologia celulelor sistemului limfo-reticulo-hematopoetic în culturi de țesuturi*, 1969.

ESKENASY AL., *Imunomorfologia și imunopatologia plămînului*, 1972.

MICU D., *Citologia organelor limfoide*, 1973.

CHINȚA GH., *Grefa de piele liberă. Biologie și implicații practice*, 1974.

POSZGI N., GHYKA GR., *Imunogenetica*, 1974.

RĂILEANU C., RĂILEANU-MOȚOIU IOANA, *Atlas de hematologie clinică*, 1974.

Scanned with OKEN Scanner

imunobiologie
imunochimie
imunopatologie

Scanned with OKEN Scanner

Dr. VL. APĂTEANU; prof. dr. doc. ŞT. BERCEANU; prof. dr. doc. VICTOR CIOBANU; dr. doc. VICTOR GHEŢIE; dr. GR. GHYKA; dr. MARIANA GOCIU; prof. dr. doc. I. MESROBEANU; dr. doc. LYDIA MESROBEANU; dr. M. MOANGĂ; dr. V. NICOLAESCU; dr. A. PAPPO; dr. EUG. PĂUNESCU; dr. I. GR. POPESCU; dr. C. POPOVICI; conf. dr. S. PURICE; dr. CARMEN RACOVEANU; dr. LIGIA SIMIONESCU; prof. dr. ŞT. ŞUŢEANU; dr. ION URSEANU

imunobiologie imunochimie imunopatologie

Sub redacţia

prof. dr. doc. **I. MESROBEANU** şi prof. dr. doc. **ŞT. BERCEANU**

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA
1975

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

1. INTRODUCERE 11

A. **Definiții, clasificare** (de *I. Mesrobeanu* și *Eug. Păunescu*) 11
B. **Dezvoltarea filogenetică și ontogenetică a imunității** (de *I. Mesrobeanu* și *Eug. Păunescu*) 18
C. **Recunoașterea imunologică și determinismul ei genetic** (de *Gr. Ghyka*) 21
Bibliografie 27

2. ȚESUTUL LIMFOID-FAGOCITAR CA SEDIU AL PROCESELOR IMUNITARE (de *Eug. Păunescu*) 29

A. **Sistemele monocitar macrofagic și limfoid** 29
1) Sistemul monocitar macrofagic 29
2) Sistemul limfoid 31
B. **Structura organelor limfoide** 33
1) Timusul 33
2) Ganglionii limfatici 34
3) Splina 35
C. **Structura și funcția celulelor care participă la procesele imunitare** . . . 36
1) Macrofagele (fagocitele mononucleare) 37
2) Celulele limfoide 40
3) Plasmocitul 43
D. **Rolul contactului intercelular în procesele imunitare** 45
E. **Imunosupresia și mecanismele de acțiune ale substanțelor imunosupresive** 53
Bibliografie 57

3. DETERMINANȚI ANTIGENICI. CARACTERELE SUBSTANȚELOR ANTIGENICE (de *Lydia Mesrobeanu* și *Eug. Păunescu*) 59

A. **Condiții de antigenitate** 60
B. **Condiții de specificitate** 63
C. **Haptenele, antigene incomplete** 69
D. **Valența antigenelor** 71
E. **Tipuri de antigene** 73
F. **Antigenele virale** 78
G. **Antigenele bacteriene** 78
1) Toxinele bacteriilor Gram-pozitive 79
2) Antigenele O (endotoxinele termostabile) ale bacteriilor Gram-negative 81
H. **Antigene celulare și tisulare** 84
1) Antigenele heterofile sau antigenele Forssman 85
2) Antigenele specifice de grup sanguin 87
3) Antigenele de transplantare 87
4) Antigenele specifice de organ 88
Bibliografie 89

4. STRUCTURA ȘI FUNCȚIA IMUNOGLOBULINELOR (de *Victor Gheție*) 91

A. **Clasificarea și nomenclatura imunoglobulinelor** 91
B. **Eterogenitatea imunoglobulinelor** 92
C. **Descrierea claselor de imunoglobuline** 93
D. **Structura chimică a imunoglobulinelor** 99
1) Disocierea moleculei în fragmente 99
2) Structura primară 100
3) Componentul glucidic 102

Scanned with OKEN Scanner

E. **Conformaţia imunoglobulinelor** 103
1) Forma şi dimensiunile moleculei 103
2) Structura secundară şi terţiară 103
3) Modele structurale (structura cuaternară) 104
F. **Situsul de combinare al anticorpilor** 105
1) Localizarea intercatenară 105
2) Configuraţia spaţială 105
3) Compoziţia chimică 106
4) Detectarea aminoacizilor care interacţionează cu antigenul 107
5) Valenţa anticorpilor 107
G. **Alotipia şi idiotipia** 108
1) Specificitatea alotipică a imunoglobulinelor umane 108
2) Localizarea factorilor genetici în moleculă 108
3) Specificitatea alotipică a imunoglobulinelor de iepure 109
4) Restricţia numărului de markeri genetici 109
5) Specificitatea idiotipică a imunoglobulinelor 110
H. **Imunoglobuline omogene** 111
1) Anticorpi cu eterogenitate restrînsă 111
2) Proteine mielomatoase cu activitate de anticorpi 112
Bibliografie 112

5. **DEZVOLTAREA RĂSPUNSULUI IMUN** 114
A. **Mecanismele de instalare a stării de imunitate. Răspunsul imun primar** (de *I. Mesrobeanu* şi *Eug. Păunescu*) 114
1) Înglobarea intracelulară a antigenului. Fagocitoza şi pinocitoza 114
2) Prelucrarea metabolică intrafagocitară a antigenului 116
3) Rolul macrofagului în procesele de răspuns imun primar 118
4) Elaborarea efectorilor imuni 120
B. **Memoria imunologică** (de *Eug. Păunescu*) 123
1) Caracteristicile memoriei imunologice 124
2) Mecanismele celulare ale memoriei imunologice 127
3) Transcripţia metabolică şi memoria imunologică 129
C. **Răspunsul imun secundar, ca reacţie anamnestică pozitivă accelerată** (de *I. Mesrobeanu* şi *Eug. Păunescu*) 131
D. **Memoria imunologică „negativă". Toleranţa imunologică** (de *I. Mesrobeanu* şi *Eug. Păunescu*) 134
Bibliografie 137

6. **REACŢII UMORALE ŞI CELULARE CU ANTIGENUL. ROLUL COMPLEMENTULUI** 141
A. **Reacţii umorale cu antigenul (reacţii antigen—anticorp)** (de *Eug. Păunescu*) 141
1) Formarea complexului antigen — anticorp 142
2) Reacţii de agregare şi mecanismele de formare 146
3) Reacţii de neutralizare 146
B. **Reacţii celulare cu antigenul** (de *Eug. Păunescu*) 150
1) Reacţii ale macrofagelor cu antigenul 151
2) Reacţii ale limfocitelor cu antigenul 155
3) Reacţii ale efectorilor moleculari limfocitari în prezenţa antigenului 159
C. **Complementul şi reacţiile imune la care participă** (de *S. Purice*) . . . 160
1) Mecanismele de activare a complementului 161
2) Fenomene asociate cu activarea complementului 165
3) Componentele complementului 168
4) Patologia complementului 169
Bibliografie 173

Scanned with OKEN Scanner

7. PROCESE ŞI MECANISME DE HIPERSENSIBILITATE IMUNOLOGICĂ (de *Eug. Păunescu*) 177
A. **Definiţie, delimitare, clasificare** 177
B. **Hipersensibilitatea specifică imediată de tip anafilactic** 182
1) Anafilaxia activă generală 182
2) Anafilaxia activă locală 183
3) Anafilaxia pasivă generală 184
4) Anafilaxia pasivă locală 185
5) Anticorpii anafilactizanţi 187
C. **Hipersensibilitatea specifică imediată de tip Arthus** 189
D. **Hipersensibilitatea specifică de tip întîrziat (hipersensibilitate celulară, hipersensibilitate de tip tuberculinic, răspuns imun mediat prin celule)** 192
1) Inducţia stării de hipersensibilitate de tip întîrziat 194
2) Tipuri de hipersensibilitate celulară 196
a) Alergia tuberculinică 196
b) Hipersensibilitatea prin transplantare 198
c) Boli autoalergice 201
E. **Mecanismele hipersensibilităţii de tip întîrziat** 202
F. **Hipersensibilitatea întîrziată şi procesele de rezistenţă celulară** 210
G. **Hipersensibilitatea nespecifică de tip Sanarelli-Schwartzman** 212
H. **Mecanismele de producere a reacţiilor de hipersensibilitate nespecifică** 214
Bibliografie 215

8. IMUNITATEA DE TRANSPLANTARE (de *Vl. Apăteanu* şi *C. Popovici*) 218
A. **Interrelaţii gazdă — grefă** 218
1) Reacţia „gazdă contra grefă" 218
2) Reacţia „grefă contra gazdă" 221
B. **Histocompatibilitatea** 222
1) Bazele genetice ale histocompatibilităţii 222
2) Metode de testare a histocompatibilităţii 225
C. **Imunosupresia în transplantare** 226
D. **Toleranţa imunologică de transplantare** 228
Bibliografie 230

9. ALTERĂRILE FUNCŢIEI IMUNITĂŢII ŞI BOLILE IMUNOLOGICE (de *Şt. Berceanu*) 232
A. **Introducere. Istoricul şi delimitarea disciplinei de imunopatologie** . . . 232
B. **Căile de alterare a răspunsului imun şi mecanismul bolilor imunologice** 233
C. **Morfologia şi morfogeneza leziunilor imune** 237
D. **Clasificarea patogenică a bolilor imune** 244
E. **Caracterizarea patogenică a bolilor imune** 245
Bibliografie 247

10. SINDROAME ŞI BOLI PRIN DEFICIT DE RĂSPUNS IMUN (de *Şt. Berceanu*) 249
A. **Introducere şi clasificare** 249
B. **Agammaglobulinemia congenitală tip Bruton** 250
C. **Alte forme de tulburări în secreţia de anticorpi** 252
D. **Sindroame de deficit imun timo-dependente** 257
Bibliografie 258

11. BOLILE ALERGICE (de *I. Gr. Popescu*) 261
A. **Reacţii şi boli de hipersensibilitate** 261
B. **Hipersensibilitatea de tip imediat, indusă. Anafilaxia** 262
C. **Hipersensibilitatea de tip imediat, spontană. Atopia** 263
D. **Sindroame alergice „atopice"** 276

Scanned with OKEN Scanner

1) Astmul bronşic 276
2) Rinita alergică 282
3) Dermatta atopică 283
4) Sindroame alergice induse 285
5) Urticaria şi edemul angioneurotic 287
6) Alergia fizică 288
Bibliografie 290

12. BOLI PRIN COMPLEXE IMUNE (de *Şt. Berceanu*) 293
A. Boala serului 293
B. Imunopatologia carditei reumatismale şi a altor boli cardiace 296
C. Imunopatologia glomerulonefritelor 302
D. Purpura alergică capilaro-toxică 307
Bibliografie 310

13. BOLI DE COLAGEN 313
A. Lupusul eritematos difuz (de *S. Purice*) 313
B. Poliartrita reumatoidă de (*Victor Ciobanu* şi *Ion Urseanu*) 322
C. Peri-(poli)arterita nodoasă (de *Şt. Berceanu*) 328
D. Alte angiopatii autoimune (de *Şt. Berceanu*) 333
1) Arterita temporală cu celule gigante 333
2) Arterita arcului aortic 334
E. Dermatomiozita (de *Şt. Şuţeanu* şi *M. Moangă*) 336
F. Sclerodermia difuză (de *Şt. Şuţeanu* şi *M. Moangă*) 341
G. Boala mixtă a ţesutului conjunctiv (de *Şt. Şuţeanu* şi *M. Moangă*) . . . 346
Bibliografie 349

14. IMPLICAŢII IMUNOPATOLOGICE ÎN BOLILE PULMONARE (de *Carmen Racoveanu* şi *V. Nicolaescu*) 351
A. Alveolitele alergice 351
B. Alveolitele fibrozante 356
C. Angeitele pulmonare alergice 359
D. Granuloamele imune 365
E. Sarcoidoza 367
Bibliografie 372

15. BOLILE ENDOCRINE AUTOIMUNE (de *Ligia Simionescu* şi *Şt. Berceanu*) 374
A. Boli tiroidiene autoimune 374
B. Suprarenalita imunologică 382
C. Insuficienţa ovariană imună 383
D. Hipoparatiroidismul idiopatic 384
E. Hipofizita autoimună 384
F. Diabetul zaharat 384
G. Sterilitatea masculină prin autospermaglutinine 385
Bibliografie 386

16. MECANISME IMUNOPATOLOGICE ÎN BOLILE NERVOASE DEMIELINIZANTE (*Şt. Berceanu*) 388
A. Introducere, clasificare, caracterizare 388
B. Anatomie patologică 390
C. Reacţii serologice specifice 391
D. Etiopatogenie 392
Bibliografie 396

17. HEMOCITOPENIILE AUTOIMUNE (de *Şt. Berceanu*) 398
A. Anemia hemolitică autoimună dobîndită (A.H.A.I.) 398
B. Purpure trombopenice prin dereglări imunologice 410
C. Leucopenii de natură imună 416
Bibliografie 420

Scanned with OKEN Scanner

18. IMPLICAȚII IMUNE ÎN ALTE BOLI 422

A. Elemente de imunopatologie a tractului alimentar (de *A. Pappo*) 422
1) Enteropatia carențelor imunitare 424
2) Boala lanțurilor alfa 425
3) Boala celiacă 427
4) Colita ulceroasă 429
5) Boala lui Crohn 432

B. **Mecanisme autoimune în hepatitele cronice agresive și ciroze** (de *Șt. Berceanu*) 433

C. **Mecanisme autoimune în anemia pernicioasă Biermer** (A.P.B.) (de *Șt. Berceanu*) 438

D. **Leziuni oculare de natură alergică și autoalergică** (de *Șt. Berceanu*) . . 440

Bibliografie 443

19. IMPLICAȚIILE IMUNOLOGICE ÎN BOALA CANCEROASĂ (de *Mariana Gociu*) 446

A. **Antigenele tumorale** 446
B. **Relațiile gazdă — tumoare** 450
C. **Influența neoplaziilor asupra capacității imune a organismului** 455
D. **Imunoterapia anticanceroasă** 456

Bibliografie 458

Scanned with OKEN Scanner

1. INTRODUCERE

A. DEFINIȚII, CLASIFICARE

I. MESROBEANU și EUG. PĂUNESCU

Imunologia, ca disciplină autonomă a biologiei, a luat naștere odată cu microbiologia, în ultimele decenii ale secolului al XIX-lea. Primul tratat de bacteriologie, publicat în 1885 de către Cornil și Babeș, a fost urmat la scurt timp de lucrarea lui Metchnikoff „Imunitatea în maladiile infecțioase", care marchează debutul imunității microbiologice.

Desigur, anumite cunoștințe empirice de imunologie privind rezistența specifică a anumitor organisme față de unele boli infecțioase existau încă din antichitate. Se știa, de exemplu, că indivizii ce contractau ciuma sau variola și treceau peste boală rămîneau rezistenți tot restul vieții la aceste infecții. La sfîrșitul secolului al XVIII-lea, Jenner semnalase că infecția vaccinală poate să ocrotească organismul de o infecție variolică ulterioară. Primele date științifice asupra imunoprofilaxiei aparțin însă lui Pasteur, care a realizat vaccinarea antiholerică la găini și, imediat după aceea, vaccinările anticărbunoasă și antirabică. În acest cadru, relevarea de către Metchnikoff a rolului reacțiilor celulare în infecții, în paralel cu demonstrarea reacțiilor umorale de către Buchner, Nuttall, von Behring, Ehrlich, Bordet, au pus bazele imunologiei ca știință.

Inițiată ca o știință a mijloacelor specifice și nespecifice de apărare a organismului contra infecțiilor, imunologia se dezvoltă ulterior, lărgindu-și în ritm alert sfera. Serodiagnosticul devine în scurt timp nu numai un mijloc de identificare a bolilor infecto-contagioase, ci și un instrument de bază în taxonomia generală. Serodiagnosticul a oferit zoologiei o metodă precisă de studiu al gradului de înrudire între specii și indivizi, a procurat medicinii legale mijlocul de a determina originea petelor de sînge și a lărgit foarte mult sfera de aplicativitate medicală a imunologiei: identificarea grupelor sanguine, precizarea noțiunilor de specificitate individuală și de organ, de histocompatibilitate, de boală autoimună, de reactivitate antitumorală etc.

Inițial, în termenul de imunitate se includea doar ansamblul mecanismelor — moștenite sau dobîndite — care concură la apărarea organismului contra infecțiilor. Astăzi, în acest termen au fost înglobate fenomene fiziologice și patologice, în aparență foarte disparate, dar care au în comun caracterul de „răspuns imun" la contactul cu antigenul.

Modalitățile foarte variate de răspuns la antigen pe care le manifestă organismele, în general, și vertebratele, în particular, au condus la o diversificare corespunzătoare a criteriilor de clasificare a fenomenelor imune. Există în prezent cel puțin două criterii generale de clasificare: *a*), cel al originii reactivității imunitare (sub acest aspect deosebind *imunitatea naturală* sau moștenită de *imunitatea dobîndită*) și *b*), cel al tipului de efector

imunologic (deosebind în acest sens *imunitatea umorală* de *imunitatea mediată celular*). La o analiză mai riguroasă rezultă însă că şi din acest punct de vedere nu este posibilă o delimitare netă : aşa cum imunitatea dobîndită se dezvoltă numai pe baza unui fond natural (înnăscut) de elemente determinate, tot astfel imunitatea umorală are o origine net celulară (anticorpii şi alţi factori inhibitori fiind produşi ai celulelor imunocompetente).

Printre numeroşii factori nespecifici de inhibiţie microbiană cunoscuţi în prezent şi consideraţi ca aparţinînd elementelor de imunitate naturală se numără şi *lizozimul*, descris în 1922 de către Fleming în lacrimi şi secreţii nazale ; este de asemenea prezent în colostru şi lapte, precum şi în albuşul de ou (de unde, în 1937, Abraham şi Robinson l-au obţinut sub formă cristalizată). Lizozimul este o proteină bazică, termostabilă şi antigenică, cu G.M. 14 300, formată dintr-un polimer de 129 de molecule de aminoacizi. Are acţiune mucopeptidazică, hidrolizînd mucopeptidul de acid N-acetilmuramic şi N-acetilglucozamină prezent în peretele celulei bacteriene, pe care în felul acesta o lizează. Este prezent şi în fagocite, participînd intens la bacterioliza intracelulară. În cazul fagocitelor obţinute de la organisme imunizate activ, concentraţia în lizozim şi în alte enzime lizosomale este mult crescută în comparaţie cu cea din fagocitele prelevate de la organisme neimunizate. Cu alte cuvinte, factorii efectori ai imunităţii naturale sînt în general activaţi şi intensificaţi în paralel cu procesele de instalare a imunităţii dobîndite.

O situaţie similară, de intensificare a factorilor de imunitate naturală ca urmare a imunizărilor active, a fost dealtfel descrisă şi în cazul unor substanţe serice de tipul beta-lizinelor şi properdinei (ambele bactericide pentru o mare varietate de germeni, properdina necesitînd şi prezenţa complementului, fracţiunea C′—3), ca şi în cazul interferonului, complementului etc.

În acelaşi sens, procesele fagocitare — cele mai vechi filogenetic dintre elementele de imunitate naturală — s-au dovedit a suferi o activare importantă ca urmare a instalării imunităţii dobîndite. Această activare se referă atît la potenţialul bactericid şi litic al fagocitelor, cît şi la capacitatea lor de înglobare, care este intensificată specific în prezenţa anticorpilor opsonizaţi ce apar în cursul imunităţii dobîndite. Dealtfel, în ultimii ani s-au acumulat date din ce în ce mai numeroase pentru considerarea opsoninelor „naturale" drept anticorpi obişnuiţi, apăruţi ca urmare a unor infecţii inaparente.

Există deci în prezent o serie de date care converg pentru argumentarea ipotezei originii comune a factorilor de imunitate naturală şi de imunitate dobîndită. Asemenea date constituie însă, în primul rînd, argumente deosebite pentru a sublinia deosebirea ce trebuie făcută între conţinutul noţiunii de *imunitate naturală* şi cel al noţiunii de *rezistenţă naturală* (*ereditară sau înnăscută*).

Rezistenţa „înnăscută" reprezintă totalitatea factorilor — celulari şi umorali — care asigură protecţia unui organism contra efectelor agresiunii externe şi care fac parte din patrimoniul ereditar al speciei sau al liniei genetice la care aparţine organismul în cauză. Aceşti „factori de rezistenţă naturală" sînt nespecifici imunologic, fiind activi faţă de variate antigene, dar sînt specifici speciei, în sensul că toţi indivizii unei populaţii izogene au o rezistenţă similară faţă de un anumit tip de agresiune (spre

exemplu: cîinele este foarte rezistent la infecția tuberculoasă, în timp ce cobaiul este foarte sensibil). Chiar dacă, în ceea ce privește factorii genetici individuali, unele organisme (linii izogene sau specii) pot da un răspuns imun mai rapid și mai eficient decît altele, aceasta nu înseamnă că variațiile de răspuns imun se datoresc unor factori ai rezistenței înnăscute (în exemplul amintit, dacă se vaccinează antituberculos atît cîinele cît și cobaiul se constată că acesta din urmă dă un răspuns imun mai eficient decît cîinele). Este adevărat că unele procese imunologice pot crește rezistența înnăscută (administrarea adecvată a lipopolizaharidelor bacteriene duce atît la un răspuns imun, concretizat în producerea de anticorpi specifici, cît și la creșterea rezistenței naturale, concretizată în intensificarea potențialului fagocitar); după cum, imunizarea contra unei anumite boli (vaccinarea antituberculoasă) poate duce la o *imunitate eterologă* (antibrucela). De fiecare dată, însă, la o analiză mai atentă a procesului complex se poate desprinde ceea ce revine mecanismelor imunologice (răspuns specific la un anumit antigen) de ceea ce ține de rezistența naturală (factori nespecifici de apărare).

După cum s-a menționat, ceea ce caracterizează procesele imunitare sînt mecanismele de răspuns specific la contactul cu un antigen. Din acest punct de vedere, dacă se încearcă a se defini imunitatea, în sensul general de proces fiziologic, ca potențialul unui organism de a neutraliza specific substanțele cu calități antigenice, în vederea păstrării nemodificate a echilibrului mediului intern (homeostazie), ar însemna să se elimine din cadrul fenomenelor imunologice procesele de hipersensibilitate, care constituie cu certitudine un *răspuns specific* la un antigen, dar care au un efect invers, de dezechilibrare a compoziției mediului intern.

Reținînd însă caracterul cel mai general, de „răspuns specific" al proceselor imunitare, devine posibilă diferențierea mecanismelor specifice, imunologice, de cele generale (și nespecifice) de apărare a organismului; acestea din urmă constituie caracteristica rezistenței înnăscute și a altor mecanisme de menținere a homeostazei (procesele implicate în păstrarea echilibrului acido-bazic, mecanismele de detoxifiere, cele de transport și circulație în mediul intern etc.).

În acest sens, *lipsa de răspuns* a indivizilor dintr-o specie față de un anumit agent patogen („nesusceptibilitate", după Carpentier; „imunitate înnăscută", după autorii clasici Bordet, Topley, Boyd, Zillber etc.) nu poate constitui un fenomen imunologic, ci un proces de *rezistență naturală* (*înnăscută*).

Imunitatea dobîndită poate fi considerată ca suma fenomenelor ce apar după o stimulare antigenică, simplă sau complexă, de origine cunoscută. Aceste fenomene imunitare pot fi constatate atît la nivelul umoral (producere de anticorpi), cît și la nivelul celular (hipersensibilitate de tip tardiv). Trebuie subliniat însă că nu există o imunitate „umorală" de sine stătătoare și nici o imunitate „celulară" pură; procesele imunologice sînt complexe și, dacă au o bază celulară indiscutabilă (spre exemplu: anticorpii sînt produși de plasmocite), există de regulă și o interesare concomitentă a componentei umorale (anticorpi circulanți, sesili, citofili, sensibilizanți; complementul cu toate fracțiunile sale etc.). Atributul de imunitate „umorală" sau „celulară" este conferit de tipul de componentă care participă în mod dominant la reacția cu antigenul:

Scanned with OKEN Scanner

anticorpii în cazul imunităţii „de tip umoral" şi celulele sensibilizate în cazul imunităţii „de tip celular".

După *modul de realizare* a imunităţii dobîndite se deosebesc:

a) *Imunitatea dobîndită natural* (postinfecţioasă), care se instalează ca rezultat al trecerii organismului prin boală (formă clinică sau infecţie inaparentă). Febra tifoidă, difteria, scarlatina, precum şi în general celelalte afecţiuni bacteriene şi virale asigură dezvoltarea unei imunităţi dobîndite. În aceste cazuri, între termenii de „imunitate dobîndită" şi „rezistenţă dobîndită" (sau „rezistenţă imunologică") este o suprapunere integrală, deoarece gradul de „imunitate" postinfecţioasă corespunde cu gradul de „rezistenţă" la o nouă infecţie.

Gradul de imunitate depinde mai ales de calităţile antigenice ale germenului sau ale produşilor săi de metabolism pe care îi eliberează în mediu.

b) *Imunitatea dobîndită artificial* (postvaccinală), care se instalează după supunerea organismului la vaccinarea selectivă, cu un anumit tip de antigen.

După *mecanismul de instalare* al imunităţii dobîndite se deosebesc trei tipuri:

1) *Imunitatea dobîndită activ* este rezultatul unei stimulări antigenice directe, realizată în mod natural (infecţie) sau artificial (vaccin).

În cadrul imunizării active intră şi fenomenul de imunizare a mamei prin antigene de origine fetală (spre exemplu: mamă Rh-negativă, făt Rh-pozitiv).

Imunitatea dobîndită activ în mod artificial constituie baza întregii profilaxii a bolilor infecţioase, care este rezultatul descoperirilor fundamentale făcute în această direcţie de către Jenner şi Pasteur. Fie prin vaccinuri vii atenuate, ca în cazul bacilului tuberculos (B.C.G.), al virusului poliomielitic (tulpina Sabin) etc., fie prin vaccinuri omorîte (*H. pertussis*), fie prin toxine detoxifiate (anatoxinele difterică, tetanică etc.) se induce starea de imunitate dobîndită faţă de diferiţi agenţi microbieni sau toxinele lor.

2) *Imunitatea dobîndită pasiv* se obţine — natural sau artificial — la un organism (neimunizat prin mijloace proprii) prin transferul de efectori imunitari (anticorpi sau celule sensibilizate) de la un alt organism care fusese imunizat activ. Transferul de anticorpi de la mamă la făt (diaplacentar la om) sau de la mamă la nou-născut (prin colostru la bovidee) constituie un exemplu de imunitate dobîndită pasiv pe cale naturală. Seroterapia şi transferul sensibilităţii de tip întîrziat, prin intermediul mononuclearelor sanguine sau peritoneale (Chase, Lawrence), constituie exemple de imunizare dobîndită pasiv, pe cale artificială.

Acest tip de imunitate este de scurtă durată, fiind legată strict de timpul de supravieţuire în organismul receptor a moleculelor de anticorpi (sau celulelor) introduse (3—18 zile în medie).

3) *Imunitatea adoptivă* este imunitatea dobîndită artificial prin transfer de celule imunocompetente (suspensii celulare din organe limfohematopoietice: splină, măduvă osoasă, ganglioni limfatici, ţesut limfoid din tractul digestiv etc.), provenite de la un organism activ imunizat în prealabil. În organismul receptor, celulele imunocompetente transferate se pot dediferenţia şi multiplica, conferind receptorului tipul de imunitate transferat de la donator.

Scanned with OKEN Scanner

Durata imunității adoptive este foarte variabilă : ea poate fi limitată, dacă celulele transferate dau naștere și la reacții de homotransplantare (de tip gazdă-contra-grefă); dacă însă celulele transferate sînt izologe (provin de la homozigoți sau de la indivizii unei aceleiași linii pure) sau dacă există alte condiții de compatibilitate a transplantării (toleranță imunologică prin imaturitatea receptorului ori iradierea prealabilă a acestuia), atunci durata imunității adoptive nu mai este limitată.

Acest tip de imunitate reprezintă în prezent doar un fapt experimental, dar de o mare importanță teoretică și cu un nebănuit potențial practic.

★

La progresele actuale ale imunologiei a contribuit în mod special și chimia, prin *imunochimie* (termen creat în 1907 de către Arrhenius). Problemele de bază ridicate la origine de imunochimie — structura antigenelor (cap. 3), structura anticorpilor (cap. 4), reacția antigen-anticorp (cap. 6) — sînt astăzi elucidate, după numai șase decenii de investigație. În plus, multiple alte aspecte, relevate pe parcursul dezvoltării acestei științe, au îmbogățit consistent cunoștințele asupra mecanismelor implicate în procesele imune. Acesta este cazul substratului metabolic al sintezei anticorpilor, al modificării prin semisinteză a determinanților antigenici, al purificării activatorilor biologici (hormoni, enzime) prin imunoadsorbanți (anticorpi fixați pe suport solid), al metodelor radioimunologice care permit determinări foarte sensibile, specifice și reproductibile etc.

Dacă imunochimiei îi revine meritul de a fi putut descifra, în ultimul deceniu, aspectele complexe ale structurii imunoglobulinelor-anticorpi, în aceeași perioadă imunobiologia a demonstrat că limfocitele sînt principalele celule implicate în reacțiile imune (cap. 2).

Conceptul actual despre mecanismele imunologice se bazează pe faptele care au pus în evidență existența a două tipuri de limfocite, T și B, care corespund la două organe limfoide centrale: timusul pentru celulele T și măduva osoasă (echivalentul organului bursal de la păsări) pentru celulele B la mamifere (cap. 2). Independent de prezența antigenului, organele centrale produc cele 2 tipuri de limfocite și le trimit, pe cale circulatorie, către organele limfoide periferice : ganglionii limfatici, splina și țesuturile limfoide asociate tractului intestinal. În aceste organe periferice, limfocitele T și B vin în contact cu antigenul, care stimulează diferențierea lor în ,,celule imunoefectoare'' : *1*) unele provenind din celulele T și constituind ,,limfocitele reactive'' (sensibilizate), care sînt răspunzătoare de imunitatea mediată celular (hipersensibilitatea de tip întîrziat, reacțiile gazdei contra grefei etc.,); *2*) altele, provenind din celulele B stimulate și constituind ,,plasmocitele'', celule ce sintetizează anticorpii răspunzători de imunitatea umorală (precipitarea și neutralizarea antigenelor, hipersensibilitatea imediată etc.).

În timp ce capacitatea de răspuns imun mediat prin celule poate fi transferată la un alt organism numai prin limfocite reactive provenite de la un donator sensibilizat în prealabil, imunitatea de tip umoral (prin imunoglobuline-anticorpi) poate fi transferată fie prin serul donatorului, fie prin populații de limfocite provenite de la donatorul sensibilizat. Pe

Scanned with OKEN Scanner

de altă parte, reducerea masivă a limfocitelor unui organism (iradiere, drenarea prelungită a canalului toracic etc.) duce la scăderea apreciabilă a capacităţii de răspuns imun global, atît umoral cît şi celular.

Timectomia experimentală la nou-născuţi reduce masiv răspunsurile imune mediate celular, fără să afecteze prea mult imunitatea umorală. Aceleaşi mecanisme se constată şi la copii cu hipoplazie congenitală timică (sindromul Di George), care manifestă o marcată slăbire a imunităţii mediată celular, dar pot produce cantităţi relativ normale de anticorpi ca răspuns la unele antigene.

Eliminarea organului bursal la păsări duce, pe de altă parte, la deficit imun umoral (prin celule B), fără a afecta în mod deosebit imunitatea mediată celular (prin celule T). Procese similare au fost observate la bolnavii cu agammaglobulinemia congenitală de tip Burton (Amos,1971), la care capacitatea de a produce anticorpi este abolită, în timp ce imunitatea mediată prin celule este normală.

Existenţa a două tipuri — T şi B — de limfocite, diferenţiate nu numai prin origine, dar şi prin alte caractere structurale şi de reactivitate (cap. 2), nu înseamnă o independenţă completă a celor două procese imune. Astfel, în prezent există un mare număr de date care demonstrează că, din fiecare 10^4—10^5 limfocite, cîte o celulă este capabilă să lege un anumit antigen. Această proprietate o manifestă ambele tipuri de limfocite imunoreactive şi în mod deosebit celulele B. Ca urmare a fixării antigenului pe receptorii corespunzători de pe celula B sau T are loc: *a*) fie inducerea răspunsului imun ordinar, ca urmare a diviziunii şi diferenţierii limfocitului în celulă imuno-efectoare (limfocit reactiv sau plasmocit producător de anticorpi); *b*) fie inducerea unei stări de toleranţă sau paralizie imună (ceea ce se traduce prin faptul că aceste limfocite nu vor mai răspunde la un contact ulterior, secundar, cu antigenul); *c*) fie o indiferenţă totală la prezenţa antigenului.

Tipul de răspuns la antigen al limfocitului individual depinde în mare măsură de natura şi concentraţia antigenului; dar el depinde în mod hotărîtor şi de prezenţa unor alte limfocite şi a macrofagelor, cu care limfocitul imunoreactiv are interacţiuni complexe. Cea mai mare parte a antigenelor, cînd sînt în concentraţii suficiente, pot stimula răspuns din partea ambelor celule T şi B. Există însă unele antigene, în special cele cu determinanţi identic repetaţi, cum sînt polizaharidele pneumococice, endotoxina de *E. coli*, polivinilpirolidona etc. (aşa-numitele antigene „timus independente"), care stimulează cu precădere şi nemijlocit limfocitele B; în timp ce alte antigene, „timus dependente", activează preferenţial celulele T, provocînd stimularea limfocitelor B prin intermediul celor T şi a macrofagelor. Celulele T răspund la concentraţii mult mai mici de antigen în comparaţie cu celulele B; şi, de asemenea, toleranţa imună a limfocitelor T se poate obţine atît cu concentraţii foarte înalte, cît şi foarte joase de antigen, în timp ce paralizia celulelor B nu pare să se obţină decît cu concentraţii foarte înalte.

Cele mai importante diferenţe între celulele T şi B interesează implicaţiile lor în cadrul răspunsului imun. Astfel, cînd limfocitele B sînt activate de antigen, ele se divid şi se diferenţiază fie în celule blastice cu reticul endoplasmic abundent, fie mai departe ca celule plasmatice. Aceste celule

Scanned with OKEN Scanner

rămîn fixate în organe, la nivelul ţesuturilor limfoide, de unde secretă imunoglobuline-anticorpi circulanţi. Anticorpii, în colaborare cu diferite celule (macrofage, mastocite, bazofile etc.) sau cu anumite sisteme enzimatice serice (componentele complementului), realizează o largă gamă de reacţii de hipersensibilitate imediată şi mediază imunitatea protectivă, seroneutralizantă, contra multor organisme patogene. De asemenea, anticorpii contribuie la reglarea funcţiei celulelor T şi B, fie inhibînd răspunsul lor prin competiţie pentru antigen cu receptorii limfocitari, prin eliminarea antigenului din ţesuturile limfoide, fie contribuind la inducţia toleranţei prin formarea de complexe tolerogene antigen-anticorp, fie stimulînd răspunsul limfocitar prin fixarea antigenului în ţesuturile limfoide.

Activarea celulelor T de către antigen are drept urmare tot un proces de diviziune şi diferenţiere blastică, fără să prezinte însă reticul endoplasmic dens şi nici producţie sau secreţie de anticorpi. Aceste celule secretă însă o serie de alţi factori („limfokine"), ca factorul de inhibiţie a migrării macrofagelor, factori chemotactici, citotoxici, mitogeni etc., care deţin un rol principal în dezvoltarea mecanismelor imune mediate celular. Răspunsurile imune mediate celular sînt declanşate de limfocitele T activate de antigen şi ele includ procesele de hipersensibilitate întîrziată, sensibilitatea de contact, rejecţia ţesuturilor şi celulelor străine, reacţiile grefei contra gazdei şi imunitatea faţă de numeroase infecţii virale şi bacteriene. În toate aceste răspunsuri imune, celulele T angajează macrofagele, probabil prin intermediul limfokinelor.

Celulele T deţin şi rolul deosebit de a acorda asistenţă celulelor B pentru ca acestea să devină producătoare de anticorpi, aşa cum rezultă din numeroase şi diferite experimente în care eliminarea celulelor T (sau B) din organism reduce capacitatea de formare a anticorpilor faţă de antigenul administrat (cap. 2). Se ştie în prezent că pentru realizarea cooperării între celulele T şi B este indispensabilă fixarea simultană a antigenului pe ambele tipuri de celule; rolul acestui „pod antigenic" nu este încă suficient precizat, în sensul că nu este lămurit dacă „podul" serveşte pentru ca celula T să prezinte limfocitului B o anumită formă de antigen, cu imunogenitate specială, sau pentru a ţine lipită celula B de membrana celulei T sau a unei alte celule participantă la cooperare (macrofagul), în aşa fel încît un mediator chimic să poată opera între membranele celulelor lipite. Există dovezi recente că, cel puţin în unele răspunsuri imune obţinute *in vitro*, cooperarea se realizează prin eliberarea de către celulele T a unor factori antigen-specifici, similari cu IgM şi complexaţi cu antigenul, care ulterior sînt preluaţi de către macrofage.

Aşa cum anticorpii, produşi de secreţie ai clonelor limfocitare B, contribuie la reglarea răspunsului imun la antigene, tot astfel celulele T, prin funcţia de asistenţă pentru stimularea celulelor B, participă activ la răspunsul anticorpic. Rezultanta acestor interacţiuni complexe este asigurarea unui mecanism multilateral şi fin controlat de dezvoltare şi modelare funcţională a sistemului imun.

Existenţa celor două linii distincte de limfocite imunoreactive, care au origini, proprietăţi şi funcţii imunologice diferite, şi care controlează fiecare alte mecanisme imune, a permis o aprofundare deosebită a funcţio-

Scanned with OKEN Scanner

nalităţii sistemului imunogen. Sîntem astăzi în posesia cunoştinţelor necesare pentru a asigura o manipulare concretă a diferitelor particularităţi imunologice în favoarea bolnavilor cu infecţii variate, boli autoimune, cancer, grefe de organ ori stări de deficienţă imună.

B. DEZVOLTAREA FILOGENETICĂ ŞI ONTOGENETICĂ A IMUNITĂŢII

I. MESROBEANU şi EUG. PĂUNESCU

Răspunsul imunologic specific şi diferenţiat este în ultimă instanţă rezultanta unui şir de procese metabolice variate şi complexe, care — în ansamblu — asigură recunoaşterea moleculelor antigenice, prelucrarea lor pentru identificarea „informaţiei" antigenice, „memorizarea" acesteia şi sinteza unor efectori cu reactivitate strictă faţă de antigenul care a declanşat formarea lor. La nivel celular, aceste procese metabolice se desfăşoară în macrofage şi limfocite: primele captează antigenele şi le hidrolizează parţial, păstrînd intactă „informaţia" antigenică, pe care o transferă limfocitelor; acestea memorizează informaţia şi devin apte să producă celule imunoefectoare (care pot reacţiona cu antigenul fie direct, fie prin produşii lor de sinteză şi secreţie, anticorpii).

Capacitatea de răspuns imun a unui organism este deci legată nemijlocit de coexistenţa a două linii de celule: cele fagocitare şi cele limfoide.

Filogenetic, cele două tipuri de celule se dezvoltă în etape diferite: dacă funcţia fagocitară este un atribut de bază ce apare încă de la unicelulare, ţesutul limfoid se diferenţiază mult mai tîrziu, la vertebrate. La unicelulare, ca şi la metazoarele inferioare, fagocitoza este o funcţie esenţial digestivă. Ulterior, la nevertebratele mai evoluate, funcţia digestivă începe să se separe de cea fagocitară, devenind extracelulară, asigurată de un ţesut specializat, care constituie tubul digestiv. Funcţia fagocitară persistă însă şi la treptele superioare ale scării animale, însă mult diferenţiată: sub forma unor celule strict specializate — microfage şi macrofage (Metchnikoff, 1892) — care intervin numai pentru eliminarea diverşilor corpi străini de origine externă (bacterii, virusuri etc.) sau internă (celule uzate, detritusuri etc.). La vertebratele superioare, fagocitarea corpilor străini are loc cu mare eficienţă datorită participării la acest proces a opsoninelor, anticorpi specializaţi, naturali sau dobîndiţi ca urmare a proceselor de imunizare.

O altă reacţie de apărare, relativ des întîlnită la nevertebrate, este reprezentată de existenţa unei serii de agenţi bactericizi în ţesuturile lor, substanţe care protejează indivizii din specia respectivă faţă de anumite infecţii (Cantacuzino, 1920). Prezenţa acestor agenţi bactericizi este independentă de orice „stimul antigenic"; concentraţia lor creşte însă în mod semnificativ ca urmare a inoculării la diferite antigene.

Imunitatea la nevertebrate este dominant specifică de specie şi nu individuală, deoarece — în absenţa ţesutului limfoid — organismele sînt

lipsite de capacitatea de a diferenţia şi memoriza informaţia antigenică, precum şi de a răspunde la stimulul antigenic prin sinteză de imunoglobuline-anticorpi şi celule sensibilizate efectoare.

La provertebrate, studiile întreprinse cu ciclostomieni şi în particular cu *Eptatretus stoutii* (Papermaster, 1964) au arătat că aceşti peşti nu dezvoltă hipersensibilitate prin inocularea de BCG şi nici nu sînt capabili să diferenţieze autografele de homografe sau să elaboreze anticorpi ca urmare a vreunui stimul antigenic; aceste animale sînt dealtfel lipsite de celule plasmocitare şi de orice tip de celule limfoide. Printre ciclostomieni, o excepţie interesantă o constituie *Petromyzon marinus*, care s-a dovedit capabilă să dezvolte anticorpi circulanţi, să dea reacţii de hipersensibilitate întîrziată şi să prezinte fenomenul de eliminare a homografelor. Toate aceste procese caracteristice unui potenţial imunologic individualizat sînt însoţite, la această specie, de apariţia unei formaţiuni anatomice similară splinei (protosplină) şi a unui ţesut specializat, analog măduvei osoase. De asemenea, la această specie a fost identificată prezenţa de limfociţi mici şi limfoblaşti, iar în serul lor s-a constatat existenţa de proteine de tipul gammaglobulinelor.

Peştii holosteeni (*Amia calva*), elasmobranhiaţii (*Rhinobatos productus*, *Heterodontus*), ca şi teleosteenii (*Ameirus melas*, *Micropterus salmoïdes*) prezintă atît ţesut limfoid, cît şi capacitatea de a dezvolta toate tipurile de răspuns imunitar în care nu intervine complementul. Anticorpii circulanţi dezvoltaţi la aceste familii sînt numai de tip 19 S (macroglobulinici), ceea ce a dus la concluzia că aceşti anticorpi sînt mai timpurii pe scara filogenetică; dealtfel, comparativ cu imunoglobulinele 7S, care se dezvoltă la vertebratele superioare, anticorpii 19S manifestă o selectivitate mai redusă. În mod asemănător este interpretat şi cazul complementului, care este absent la holosteeni şi elasmobranhiaţi, dar este prezent la teleosteeni.

Batracienii şi reptilele prezintă un ţesut limfoid bine dezvoltat, cu formaţiuni limfoide constituite şi asemănătoare timusului, splinei şi ganglionilor limfatici. Aceste vertebrate sînt capabile să producă anticorpi atît pe tip μ(IgM) cît şi γ (IgG); de asemenea pot să dezvolte memorie imunologică şi să elimine homografe, cu condiţia de a li se asigura o ambianţă de temperatură corespunzătoare (Hildemann, 1961; Hildemann şi Clen, 1971).

Evoluţia capacităţilor imunologice pe scara animală a fost cuprinsă de către Thoenes într-o schemă sintetică, din care rezultă că potenţialul de recunoaştere, de diferenţiere între „self" şi „nonself", este cea mai veche calitate imunologică pe scara animală, putînd fi decelată încă la protozoare. Ulterior, specializarea capacităţii de recunoaştere duce la apariţia memoriei imunologice, prezentă încă la anelide, într-o formă primitivă de reacţie celulară, de tipul rejecţiei „cronice".

Producţia de anticorpi, ca efectori umorali specifici, apare filogenetic încă mai tîrziu (*Agnathae*, *Chondrichthyae*), sub formă de imunoglobuline μ (IgM) caracteristice celulelor limfoide timice; ca şi în cazul capacităţii de recunoaştere, potenţialul de producere a anticorpilor specifici se specializează ulterior, la vertebrate, care dobîndesc capacitatea de a sintetiza imunoglobuline γ, diferenţiate ulterior, la reptile, păsări şi mamifere, prin lanţuri de tip kappa şi lambda (cap. 4).

Scanned with OKEN Scanner

Capacitatea de rejecţie acută a grefelor şi reacţiile de tip întîrziat, mediate prin celule sensibilizate efectoare (cap. 7), se dezvoltă abia la vertebratele superioare, iar procesele alergice diferenţiate se manifestă deplin numai la mamifere.

O ierarhizare similară a diferenţierii diferitelor potenţiale imune se observă şi în cazul dezvoltării embrionare a mamiferelor.

Evoluţia ontogenetică a capacităţilor imunitare repetă dezvoltarea filogenetică. În acest sens, în dezvoltarea oricărui embrion există o fază iniţială de imaturitate imunologică, concretizată prin incapacitatea de răspuns la antigen.

Capacitatea de răspuns imun a embrionului apare şi se dezvoltă în strînsă dependenţă de maturarea ţesutului şi a organelor limfoide, printre care maturarea măduvei osoase a timusului ocupă un loc hotărîtor (cap. 2).

Potenţialul imunologic este purtat de o celulă-mamă nediferenţiată, dezvoltată la embrion în primele insule de medulară osoasă care apar. Aceste celule nediferenţiate multipotenţiale se răspîndesc în embrion şi, odată ajunse la nivelul timusului pe cale de formare, suferă o stimulare specifică, ce are drept urmare diferenţierea celulelor limfoide T sau „timice" (cap. 2); ulterior, acestea părăsesc timusul, intră în circulaţia generală şi — la nivelul altor organe limfoide „periferice" — îşi desăvîrşesc maturarea şi devin apte să colaboreze cu limfocitele de tip B („bursale") pentru dezvoltarea largii game de procese imune cunoscute (cap. 2).

Această secvenţă a proceselor de ontogeneză imună a putut fi stabilită prin studii detaliate la embrioni de mamifere. La şoarece, de exemplu, asemenea studii (Mandel şi colab., 1972) au precizat că celula-mamă nediferenţiată, precursoarea limfocitelor T, pătrunde în timus încă din a 11-a sau a 12-a zi de gestaţie (Owen şi Ritter, 1969). În următoarele 2 zile, aceste celule continuă să se acumuleze în timus, care nu prezintă încă o structură proprie diferenţiată. În ziua a 14-a se observă diferenţierea de celule epiteliale timice, care organizează corticala organului; concomitent, celulele nediferenţiate, provenite din măduva osoasă, încep să prolifereze, dînd naştere la o populaţie de limfocite mici şi medii. Între apariţia epitelialelor timice şi începerea diferenţierii limfoide a celulelor-mamă pare să fie o relaţie directă, fapt demonstrat în culturi de celule-mamă la care s-a adăugat un factor extras din epitelialele timice: în aceste condiţii, celula-mamă se diferenţiază şi dă naştere la limfocite. În cea de-a 17-a zi a vieţii embrionare, timusul prezintă deci o populaţie limfocitară importantă, dar strict localizată: aceste celule limfoide nu pot fi identificate în acel moment în circulaţia periferică. Respectiva etapă corespunde perioadei de lipsă totală de răspuns imun din partea embrionului.

Limfocitele prezente în corticala timică în zilele 15 şi 16 de gestaţie prezintă pe suprafaţa lor structuri antigenice de tip θ şi TL (Raff, 1971). După ziua a 17-a, aceste limfocite trec în circulaţia generală şi ajung în contact cu alte organe limfoide, unde are loc o influenţare reciprocă: limfocitele stimulează dezvoltarea acestor formaţiuni, iar acestea accelerează maturizarea limfocitelor. Interacţiunea este demonstrată şi de faptul că — după contactul cu alte organe limfoide — determinanţii antigenici

Scanned with OKEN Scanner

de tip θ și TL de pe suprafața limfocitelor timice descresc ca densitate și în schimb apare și devine dominant determinantul H-2 (Aoki și colab. 1969). Dezvoltarea celorlalte organe limfoide (splina, ganglionii etc.) are loc concomitent prin popularea lor paralelă atît cu celulele B provenite din măduva osoasă, cît și cu limfocitele T circulante. Această perioadă a dezvoltării limfoide se termină la naștere și corespunde etapei de lipsă de răspuns imun însoțită de instalarea toleranței de lungă durată pentru antigenul cu care embrionul a venit în contact.

C. RECUNOAȘTEREA IMUNOLOGICĂ ȘI DETERMINISMUL EI GENETIC

GR. GHYKA

Aspectul cel mai important al răspunsului imun, după cum a atras atenția pentru prima oară Burnet și Fenner (1949), este proprietatea celulelor implicate în acest răspuns de a discrimina propriul de străin. Recunoașterea compușilor proprii („self") și delimitarea lor strictă de compușii străini („nonself") asigură homeostazia unui anumit organism, permițîndu-i să răspundă în mod adecvat, prin declanșarea răspunsului imun, numai față de compușii „nonself". Orice perturbare a acestei stricte delimitări ar duce fie la un răspuns imun, neadecvat, față de macromoleculele proprii, deci la autoagresiune, fie, dimpotrivă, la lipsa unei reacții imune de apărare față de macromoleculele străine care, pătrunzînd în mediul intern al organismului, perturbă homeostazia acestuia.

Capacitatea de recunoaștere a materialului străin nu este limitată însă numai la celulele interesate în răspunsul imun la vertebrate, ci merge foarte departe în filogenie, pînă la ființele unicelulare și metazoarele primitive (Bona și Ghyka, 1968).

În procesul biologic de recunoaștere pot fi deosebite mai multe categorii: *a)* recunoașterea metabolică; *b)* recunoașterea celulelor străine prin contact intercelular; *c)* recunoașterea la nivel fagocitar; *d)* recunoașterea imunologică la nivelul celulelor imunocompetente.

a) Recunoașterea metabolică

Recunoașterea metabolică poate fi considerată ca forma cea mai primitivă de discriminare legată de captarea materialului plastic sau biologic activ, esențial pentru existența unei celule, indiferent dacă este vorba de o ființă unicelulară sau dacă intră în constituția unui organism. Acest proces se realizează în cursul endocitozei, care implică discriminarea între substanțele „potrivite" cerințelor nutritive și biologice conform metabolismului celular și cele „nepotrivite", asigurînd homeostazia intracelulară. Această proprietate are drept consecință specificitatea procesului de captare care poate îmbrăca două aspecte:

1) *Discriminarea calitativă*, în sensul captării unei singure substanţe dintr-un amestec de mai mulţi compuşi. Aşa, de exemplu, procesul de pătrundere a aminoacizilor şi a unor glucide prin peretele intestinal este mediat de ,,transportori", care realizează totodată o discriminare a substanţelor captate. Aceşti factori prezintă o specificitate pentru un anumit tip de aminoacizi (există diferiţi transportori pentru anumite grupe de aminoacizi), cît şi faţă de stereoizomeria acestora (Tria şi Barnabei, 1967).

2) *Discriminarea cantitativă*, în sensul captării de substanţe asemănătoare la rate diferite. S-a arătat că la bacterii, odată cu sinteza activă a enzimelor care prelucrează un anumit substrat (operonul dereprimat), se sintetizează şi enzimele transportoare (permeazele), care sînt controlate de gene ce fac parte din acelaşi operon ; aceşti transportori asigură o captare preferenţială la o rată crescută a substratului inductor (Jacob şi Monod, 1961).

Cohn şi Parks (1967), studiind inductorii de pinocitoză la macrofagele cultivate *in vitro*, demonstrează că există diferenţe cantitative, exprimate prin numărul de pinozomi formaţi pentru diferitele substanţe (proteine, aminoacizi, acizi nucleici, mucopolizaharide) capabile de a induce pinocitoza, fapt ce ar sugera că macrofagele pot discrimina natura substanţelor pinocitate.

b) Recunoaşterea celulelor străine prin contact intercelular

Această categorie cuprinde fenomenele de recunoaştere prin contactul direct intercelular, fără participarea unor factori imunologici, a celulelor ,,neasemănătoare" genetic.

Spongii oferă un exemplu al capacităţii celulelor individuale dintr-o colonie multicelulară de a recunoaşte şi răspunde selectiv la celule străine (Galstoff, 1952). Amestecînd celule spongioase disociate de la diferite specii, s-a constatat că agregatele celulare care se formează sînt constituite din acelaşi tip de celule, ceea ce înseamnă că aceste celule posedă capacitatea de a discrimina propriile celule de cele străine prin contact intercelular. Tratarea cu acid periodic a celulelor spongioase disociate duce la pierderea capacităţii de reagregare, de unde reiese că prezenţa unor compuşi polizaharidici de la suprafaţa celulelor ar putea juca un rol important în acest proces (Moscona, 1963).

c) Recunoaşterea la nivel fagocitar

Fagocitele sînt celule care în cursul evoluţiei au suferit o specializare funcţională, intervenind în procesele de apărare imunologică datorită capacităţii de captare a substanţelor străine sau a celor proprii alterate. Mecanismele principale de captare a acestor substanţe antigenice de către leucocite sînt reprezentate de procesul de fagocitoză şi pinocitoză. În cursul procesului de captare, fagocitele discriminează *self*-ul de *nonself* şi de *self*-ul alterat. Cameron (1932) a arătat că leucocitele din cavitatea celomică a rîmei captează numai microbii şi hematiile sau spermatozoizii străini şi nu fagocitează hematiile sau spermatozoizii proprii.

Scanned with OKEN Scanner

Urmărind pinocitoza diferitelor imunoglobuline (Ig) de către PMN de cobai, am constatat că acestea pinocitează la o rată semnificativ mai mare Ig heterologe decît pe cele homologe, iar acestea din urmă sînt pinocitate la o rată mai mare decît cele autologe.

Perkins și Leonard (1963) au arătat, în cazul macrofagelor de șoarece, că procentajul fagocitozei diferitelor specii de hematii este corelat cu gradul de înrudire dintre speciile donatoare de hematii și șoarece și că aceste macrofage posedă o capacitate de a recunoaște și capta cu atît mai intens hematiile cu cît acestea provin de la animale mai îndepărtate filogenetic.

Datele din ultimii ani au demonstrat că orice substanță fagocitată este acoperită de opsonine sau anticorpi naturali. Astfel, s-a arătat necesitatea serului pentru fagocitarea hematiilor alterate de către celulele Kupffer, sau necesitatea opsoninelor pentru fagocitarea de către PMN a diferitelor substanțe străine, cum ar fi particule de cărbune, bacterii, celule (Jenkin și colab., 1961, 1962 ; Rowley, 1962).

S-a demonstrat că anticorpii citofili de la suprafața macrofagelor de iepure, cobai, șoarece sînt responsabili de captarea specifică a antigenelor (Boyden și Sorkin, 1960 ; Boyden, 1963, 1966 ; Blazkowec și colab., 1965 ; Nelson și Mildenhall, 1967).

O excelentă lucrare care a pus în evidență rolul determinant al anticorpilor citofili în fixarea antigenelor de către macrofage a fost realizată de către Sulica și colab. (1971). Autorii au folosit drept complex antigenic un conjugat dinitrofenil (DNP)-bacteriofag, care se fixează pe macrofagele animalelor imunizate anti-DNP.

Aceste date permit concluzia că procesul de recunoaștere la nivel fagocitar este mediat de opsonine sau anticorpi naturali. Indiferent însă dacă opsoninele sau anticorpii naturali mediază procesul de recunoaștere, membrana leucocitară trebuie să joace un rol activ în acest proces.

O serie de date experimentale îndreptățesc concluzia că pe suprafața macrofagelor există receptori pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor (Berken și Benacerraf, 1966) și, de asemenea, o altă categorie de receptori specifici pentru complement (Bianco, 1973). Indiferent deci dacă substanțele străine se prezintă sub forma unor complexe antigen—anticorp sau sub forma unor complexe antigen—anticorp—complement, ele vor găsi la suprafața macrofagelor receptori specifici, care leagă aceste complexe, urmînd ca antigenul să fie ulterior degradat și eliminat din organism sau prezentat celulelor limfoide pentru a declanșa un răspuns imun.

Feldman (1972) consideră că în circuitul fiziologic al organismelor, într-o primă etapă, antigenul se fixează mai întîi pe suprafața celulelor limfoide T cu receptori specifici. Apoi, antigenul se desprinde de pe celula T păstrînd legat de el un fragment de membrană celulară, care va media efectiv acolarea ulterioară a antigenului și suprafața macrofagului. Acest punct de vedere, deși încă discutat de unii cercetători (Katz și Unanue, 1973), ilustrează că funcția de recunoaștere și captare a antigenului de către macrofage este mult influențată de funcția de recunoaștere la nivelul celulelor imunologice competente, limfo-plasmocitare.

b) Recunoaşterea imunologică la nivelul celulelor imunologic competente

Recunoaşterea antigenului la nivelul celulelor imunologic competente este un proces preliminar, indispensabil, indiferent dacă răspunsul imun declanşat de acest antigen va fi de tip celular sau umoral. Capacitatea celulelor imunologic competente de a recunoaşte determinanţii antigenici se realizează prin intermediul unor factori de recunoaştere de pe suprafaţa membranei celulelor formatoare de anticorpi, care au o înaltă specificitate. Existenţa acestor receptori celulari de recunoaştere a fost pusă în evidenţă pentru macrofage de către Boyden şi Sorkin, iar mai recent de către Sulica şi colab. (1971).

Numărul total de receptori prezenţi într-o populaţie de celule splenice a putut fi evaluat şi s-a dovedit că, la un animal imunizat, numărul total de receptori creşte pe seama creşterii numărului de celule purtătoare şi nu datorită creşterii numărului de receptori per celulă. Receptorii de pe suprafaţa celulelor B (producătoare de anticorpi) s-au dovedit a fi alcătuiţi dintr-o porţiune analogă situsului combinativ al anticorpilor sintetizaţi de aceste celule.

Prin intermediul anticorpilor anti-Ig, cuplaţi cu coloranţi fluorescenţi, receptorii de pe suprafaţa limfocitelor au putut fi „coloraţi" (Loor şi colab., 1971). S-a constatat că aceşti receptori se pot mişca în planul membranei. Uneori, ei au fost observaţi uniform repartizaţi pe suprafaţa celulei, alteori, dimpotrivă, se „aglutinează" la un pol al celulei, formînd o „bonetă" (cap. 2).

O altă dovadă în favoarea acestei afirmaţii, că receptorii de pe suprafaţa celulelor B au o structură identică cu structura Ig, este că, dacă pe o coloană de Sepharoză cuplată cu ser anti-Ig se trece un amestec de celule B şi T în coloană vor fi reţinute numai celulele B, care se prind de granula de Sepharoză datorită potrivirii dintre serul anti-Ig şi receptorii de pe suprafaţa lor, în timp ce celulele T trec prin coloană (Schlossman şi Hudson, 1973). Rezultă deci că, spre deosebire de celulele B, ai căror receptori sînt formaţi din zone Fab, caracteristice Ig sintetizate, receptorii de pe celulele T au o structură diferită, în care fragmentul Fab nu pare să fie prezent. În afară de aceşti receptori, specifici pentru antigenul considerat, pe suprafaţa celulelor B se mai găsesc receptori pentru fragmentul Fc al Ig şi receptori pentru complement (Raff, 1973).

O noţiune importantă, descoperită în ultimii ani, este legată de constatarea că într-o populaţie de animale încrucişate întîmplător, unele răspund prin sinteză de anticorpi faţă de un anumit antigen, în timp ce altele nu sintetizează anticorpi faţă de acelaşi compus. Rezultă că, deşi făcînd parte din aceeaşi specie, unele animale denumite reactive („responders") consideră un compus drept „străin", deci antigenic, în timp ce altele, denumite nereactive („nonresponders") nu recunosc acelaşi compus drept antigen şi deci nu sintetizează anticorpi specifici. Cercetările ulterioare au arătat că această comportare este genetic determinată, în sensul că într-o populaţie de animale de aceeaşi specie există familii reactive şi familii nereactive.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivitatea sau nereactivitatea controlată genetic a fost studiată la mai multe specii (cobai, șoarece sau șobolan), în raport cu mai multe antigene :

1) Polipeptide sintetice cu un număr limitat de aminoacizi identici sau diferiți, eventual cuplate cu haptene, cum ar fi gruparea dinitrofenil (DNP),

2) Antigene native slabe, înțelegînd prin aceasta molecule proteice care diferă puțin de proteinele similare ale animalului imunizat. Printre acestea notăm capacitatea femelelor din anumite linii de șoarece de a rejecta grefele de piele de mascul singeneic, deci capacitatea de a reacționa la antigene de histocompatibilitate minore, eventual legate de cromosomul Y, sau calitatea de a produce anticorpi față de determinanții alotipici ai anumitor proteine de mielom IgA,

3) Proteine native, puternic antigenice, cum ar fi albumina serică bovină, ovalbumina sau bacteriofagii. Aceste antigene au fost utilizate însă în doze mici, care permiteau deosebirea dintre un animal imunologic reactiv și unul nereactiv.

Capacitatea de a reacționa prin sinteză de anticorpi față de un anumit antigen s-a dovedit a fi controlată de un locus autosomal dominant, care, în cele mai multe cazuri, este strîns legat de locusul ce controlează antigenul major de histocompatibilitate (H—2 la șoareci; Ag—B la șobolan). De exemplu, șoarecii cu antigen de histocompatibilitate major $H-2^b$ (linia C_{57} BL) răspund bine la un polimer sintetic alcătuit din tirozină, acid glutamic, alanină și lizină (T, G)—A—L și foarte slab la un polimer asemănător în care tirozina a fost înlocuită cu histidina (H, G)—A—L. Spre deosebire de aceștia, liniile cu antigen major de histocompatibilitate $H-2^k$ (linia CBA, de exemplu) răspund slab la (T, G)—A—L.

Cercetările genetice au arătat că gena ce controlează reactivitatea imunologică față de (T, G)—A—L și față de (H, G)—A—L, denumită gena Ir—1 (de la termenul englezesc „immune response") este situată la șoarece chiar în interiorul locusului major H—2. S-a constatat că singurii recombinanți dintre regiunea H—2 și gena Ir—1 sînt în realitate rezultați din *crossing-over*-uri produse în *interiorul* regiunii H—2, între segmentul stîng „D" al acestei regiuni și segmentul drept „K" al aceleiași regiuni, gena Ir—1 fiind interpusă între aceste segmente (Benacerraf și McDevitt, 1972).

În ceea ce privește exprimarea fenotipică a acestor gene Ir, datele recente permit afirmația că ea se realizează tocmai la nivelul celulelor T. Cu alte cuvinte, receptorii caracteristici celulelor T, indiferent de structura lor chimică, ar fi genetic controlați de către genele Ir.

Rezultă că animalele reactive la un anumit antigen au pe celulele T receptori specifici care recunosc acest compus drept *nonself*, în timp ce animalele nereactive imunologic sînt genetic lipsite de acești receptori, ceea ce face ca antigenul, odată pătruns în organism, să nu găsească celulele T specifice pe care să le stimuleze pentru declanșarea răspunsului imun specific.

Gershon și colab. (1973) consideră că de fapt toți indivizii unei specii, indiferent de reactivitatea lor imunologică, posedă receptori la nivelul celulelor T, specifici pentru fiecare antigen în parte. Ceea ce deosebește animalele reactive de cele nereactive este însă afinitatea acestor

receptori pentru un anumit antigen. Astfel, animalele nereactive posedă receptori care au o afinitate prea mare pentru antigenul respectiv. O fixare prea puternică pe receptor ar determina o paralizie funcţională şi deci celula T nu va mai putea coopera împreună cu antigenul în activarea celulei B. La animalele reactive există o afinitate corespunzătoare a acestor receptori pentru un anumit antigen, ceea ce determină o activitate optimă a celulei T. În acest caz se pare că tipul de antigen major de histocompatibilitate contribuie la determinarea *gradului de afinitate* a receptorului specific de pe celula T faţă de un anumit antigen. Indiferent însă de natura chimică a receptorilor de pe celulele T şi B, care, după cum am arătat, se consideră a fi diferită, întrebarea ce urmează este dacă, măcar sub raportul specificităţii lor, aceste două categorii de receptori sînt identice. Cu alte cuvinte, dacă receptorii de pe celulele T recunosc pe un antigen aceeaşi grupare determinantă ca şi receptorii de pe celulele B.

O serie de argumente experimentale au considerat iniţial că specificitatea receptorilor B şi T în raport cu un anumit antigen este identică.

Date mai recente arată însă că, cel puţin în cazul anumitor antigene, această specificitate pare a fi diferită. S-a constatat că un anumit antigen, care în forma iniţială stimulează mai degrabă sinteza de anticorpi decît starea de hipersensibilitate întîrziată, activează mai intens celulele B decît celulele T; dacă i se practică anumite modificări chimice discrete ajunge să stimuleze mai intens celulele T decît celulele B. Astfel, albumina serică bovină nativă induce deopotrivă sinteza de anticorpi antialbumină şi instalarea stării de hipersensibilitate întîrziată. Dacă însă animalul va fi imunizat cu albumină metilată, producţia de anticorpi antialbumină *nativă* va fi redusă, în timp ce, invers, reacţiile de hipersensibilitate întîrziată, vor fi proporţional mai intense (Schirrmacher şi Wigzell, 1972). Acelaşi fenomen a fost constatat şi de către Parish (1972), după tratarea hematiilor cu periodat sau după acetoacetilarea lor.

Virusul gripal sau hemaglutinina rujeoloasă, prin acolarea specifică şi spontană pe suprafaţa hematiilor, transformă aceste celule dintr-un antigen ce induce un răspuns imun predominant *umoral*, într-un antigen ce induce un răspuns predominant *celular* (Ghyka şi Cernescu, 1973). În concluzie, cel puţin în raport cu anumite antigene, aria de recunoaştere a receptorilor specifici de pe celulele T este diferită şi relativ mai largă decît aria de recunoaştere a receptorilor de pe celulele B, care are o specificitate mai restrînsă.

Astfel, consecutiv procesului de apariţie a unor clone de celule imunologic competente, acestea vor suferi selecţia impusă de către macromoleculele proprii, care va duce la paralizia funcţională a tuturor clonelor potenţial reactive faţă de aceste macromolecule (Burnet, 1959). Or, după cum este binecunoscut, tipul de macromolecule proprii unui organism reprezintă un caracter genetic transmisibil ereditar de la o generaţie la alta.

După teoria lui Jerne (1971), aceste antigene prezente şi în ţesutul timic şi în măduva osoasă stau la baza selecţiei clonale a celulelor imunologic competente, aici fiind reţinute toate celulele care poartă receptori specifici îndreptaţi împotriva antigenelor de histocompatibilitate proprii.

Cercetările lui Iverson şi Lindenmann (1972) au arătat corelaţia care există între antigenele specifice unui ţesut şi antigenele de histocom-

Scanned with OKEN Scanner

patibilitate, comune tuturor țesuturilor unui anumit individ, precum și importanța acestor relații în determinarea reacțiilor autoimune. Astfel, dacă șoarecii unei anumite linii pure sînt inoculați cu un extract de ficat alogenic, vor sintetiza autoanticorpi antificat. În schimb, animalele preparate întîi tolerante la antigenele de histocompatibilitate ale liniei alogenice nu mai produc anticorpi, sugerînd că determinantul antigenic specific țesutului de ficat se comportă ca o „haptenă", care nu poate induce sinteza autoanticorpilor decît dacă se găsește legată la un purtător reprezentat de antigenele de histocompatibilitate alogenică.

Indiferent dacă pînă în prezent este încă relativ imprecisă modalitatea prin care genele Ir se exprimă fenotipic, rămîne de reținut că un anumit tip de antigene de histocompatibilitate intervine în funcționalitatea receptorilor de pe suprafața celulelor T, determinînd celulele ce poartă acești receptori să declanșeze sau, dimpotrivă, să nu poată declanșa un răspuns imun față de un compus macromolecular, deși acesta este cert străin.

Lucrările recente ale lui Sher și Cohn (1972) tind să arate că, la șoareci, specificitatea anticorpilor față de anumite antigene, cum ar fi determinanții fosforilcolină din carbohidrații pneumococilor de tip C, nu reprezintă un rezultat al evenimentelor de diversificare întîmplătoare apărute la nivel somatic, ci că secvența situsurilor combinative specifice pentru aceste antigene este codificată în liniile germinative.

Se enunță astfel posibilitatea ca, față de anumite antigene particular de nocive în raport cu o anumită specie animală, evoluția filogenetică să fi selectat acei indivizi la care informația genetică pentru acești anticorpi vital necesari este codificată la nivelul liniei germinative și nu lăsată la voia unui proces aleator, ce are loc în cursul evoluției ontogenetice.

În concluzie, chiar dacă definirea configurației de macromolecule antigenice reprezintă un lanț de evenimente care decurg din evoluția ontogenetică, avînd de fiecare dată un alt aspect pentru fiecare individ în parte, cu toate acestea, procesul, realizat eventual de-a lungul evoluției liniilor somatice, este mult influențat de evenimentele filogenetice a căror soartă este determinată de evoluția liniilor germinative.

BIBLIOGRAFIE

Amos B., în *Progress in Immunology*, Academic Press, New York, 1971, p. 213.

Aoki T., Hammerling U., De Harven E., Boyse E. A., Old L. J., J. exp. Med., 1969, *130*, 979.

Benacerraf B., McDevitt H. O., Science, 1972, *175*, 273.

Berken A., Benacerraf B., J. exp. Med., 1966, *123*, 119.

Bianco C., în *III*rd *International Symposium of Immunology*, Who-Iuis, Sinaia, România, 1973.

Blazkowec A. A., Sorkin E., Turk J. L., Int. Arch. Allergy, 1965, *28*, 178.

Bona C., Ghyka Gr., Microbiol. Parazitol. Epidemiol., 1968, *13*, 489.

Boyden S. V., în *Cell Bound Antibody*, sub red. Amos B., Koprowski H., 1963, p. 7.

Boyden S. V., *Natural Antibodies and the Immune Response*, în *Adv. in Immunology*, vol. VI, sub red. F. J. Dixon, J. H. Humphrey, Academic Press, New York — Londra, 1966, p. 489.

Boyden S. V., Sorkin E., Immunology, 1960, *3*, 272.

Burnet F. M., *The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity*, Vanderbilt Univ. Press, 1959.

Scanned with OKEN Scanner

BURNET F. M., FENNER F., *The Production of Antibodies*, Edit. MacMillan and Co., Melbourne, 1969.
CAMMERON W. R., J. Path. Bact., 1932, *35*, 933.
CANTACUZÈNE J., C.R. Soc. Biol., 1912, *124*, 111; 1913, *73*, 665 şi *74*, 293; 1916, *79*, 528; Rev. gén. Sci., 1920, *31*, 353; Arch. roum. Path. exp., 1928, *1*, 7.
COHN Z. A., PARKS E., J. exp. Med., 1967, *175*, 213.
COOPER A. J., în *Leucocyte culture conference*, sub red. O.R. MCINTAYNE, Appleton Publ., New York, 1971, p. 137.
FELDMAN M., J. exp. Med., 1972, *136*, 737.
GALSTOFF P. S., J. exp. Zool., 1952, *42*, 183.
GERSHON R. K., MAURER H P., MERRYMAN F. C., Proc. Nat. U.S. Acad. Sci., 1973, *70*, 250.
GHYKA GR., CERNESCU C., în *III*rd *International Symposium of Immunology*, WHO-IUIS. Sinaia, România, 1973.
HILDEMANN W. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1961, *97*, 139.
HILDEMANN W. H., CLEM L. W., în *Progress in Immunology*, Academic Press, New York, 1971, p. 1 305.
IVERSON G. M., LINDENMANN J., Eur. J. Immunol., 1972, *2*, 195.
JACOB FR., MONOD J., J. mol. Biol., 1961, *3*, 318.
JENKIN C. R., ROWLEY D., J. exp. Med., 1961, *114*, 363.
JENKIN C. R., KARTHINGAM K., C.R. Soc. Biol. (Paris), 1962, *156*, 1 006.
JERNE N. K., Eur. J. Immunol., 1971, *1*, 1.
KATZ D. H., UNANUE E., J. exp. Med., 1973, *134*, 967.
LOOR F., FORNI L., PERNIS B., Eur. J. Immunol., 1971, *1*, 433.
MANDEL T., RUSSEL P. J., BYRD W., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 183.
METCHNIKOFF E., *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*, Edit. Masson, Paris, 1892.
MOSCONA A. A., Proc. nat. U.S. Acad. Sci. (Wash.), 1963, *49*, 742.
NELSON M. D., MILDENHALL O., Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 1967, *45*, 11.
OWEN J. J. T., RITTER M. A., J. exp. Med., 1969, *129*, 431.
PAPERMASTER B. W., CONDIE R. M., FINSTAD J., GOOD R. A., J. exp. Med., 1964, *119*, 105.
PARISH C. R., Eur. J. Immunol., 1972, *2*, 143.
PĂUNESCU E., *Fenomene de hipersensibilitate*, în „Imunologie şi imunopatologie", sub red. I. MEŞROBEANU şi ŞT. BERCEANU, Edit. medicală, Bucureşti, 1968, p. 242—293.
PERKINS E. H., LEONARU M. R., J. Immunol., 1963, *90*, 238.
RAFF M. C., Transplant. Review, 1971, *6*, 52; Nature, 1973, *242*, 19.
ROWLEY D., în *Adv. in Immunology*, vol. II, sub red. W.H. TALIAFERO şi J. H. HUMPHREY, Academic Press, New York — Londra, 1962, p. 241.
SCHIRRMACHER V., WIGZELL H., J. exp. Med., 1972, *136*, 1 616.
SCHLOSSMAN S. F., HUDSON L., J. Immunol., 1973, *110*, 313.
SHER A., COHN M., Eur. J. Immunol., 1972, *2*, 319.
SULICA A., HAIMOVICI J., SELLA M., J. Immunol., 1971, *106*, 721.
TAYLOR A. E., *Immunological responsiveness in the Invertebrates and Poikilothermic Vertebrates*, Ph. D. thesis, Manchester University, 1965.
TRIA N., BARNABEI D., *Protoplasma* (Viena), 1967, *63*, 1.

Scanned with OKEN Scanner

2. ȚESUTUL LIMFOID-FAGOCITAR CA SEDIU AL PROCESELOR IMUNITARE

EUG. PĂUNESCU

A. SISTEMELE MONOCITAR MACROFAGIC ȘI LIMFOID

Pătrunderea în organism a unui antigen nu este urmată de eliminarea sa renală, prin bilă, fecale etc.; folosind metode adecvate, se poate observa reținerea antigenului în organism, într-o formă ce poate fi pusă în evidență, timp de mai multe săptămîni, la nivelul diferitelor organe, ca splina, ficatul, ganglionii limfatici, măduva osoasă etc. Ulterior, la o nouă pătrundere a antigenului, la nivelul aceloraşi organe au loc o serie de reacții specifice, rapide şi intense, constituind „răspunsul imun".

Aceste observații constituie argumente pentru existența unui sistem reactiv imunitar, răspîndit în întregul organism, care este capabil să realizeze recunoaşterea şi reținerea antigenului, urmată de răspunsul specific la un nou contact cu acelaşi antigen.

Dacă reținerea antigenului este rezultatul capacității unor celule de a fagocita corpi străini, proprietate ce apare pe scara filogenetică încă de la protozoare, posibilitatea de a răspunde imun depinde de existența unui țesut limfoid, diferențiat evolutiv abia la vertebrate (cap. 1). Astfel, la organismele superioare, caracterele fagocitare şi limfoide au dobîndit o funcționalitate puternic diferențiată, care s-a dezvoltat pe un suport morfostructural corespunzător adaptat.

Cercetările numeroase întreprinse în ultimii ani au condus la fundamentarea concepției actuale după care procesele imunitare se dezvoltă şi se manifestă la nivelul a două sisteme morfofuncționale distincte — cel monocitar macrofagic şi cel limfoid — care, în ciuda diferențierii lor avansate, au totuşi o origine comună, o distribuție similară în organism şi îşi desfăşoară activitatea într-o interacțiune continuă.

1) SISTEMUL MONOCITAR MACROFAGIC

La mamifere, capacitatea de a recunoaşte, de a reține şi de a prelucra antigenele aparține unor celule specializate, apte de a fagocita, şi răspîndite în întregul organism.

Fagocitele şi „sistemul fagocitar" au fost pentru prima oară studiate în detaliu de către Metchnikoff (1892). Acesta clasifică celulele fagocitare în „macrofage" (fagocite mari) şi „microfage" (fagocite mici sau celule polimorfonucleare). Metchnikoff demonstrează în plus că cele două tipuri de celule, considerate pînă atunci ca simple celule care adună şi elimină resturile celulare din organism, dețin şi un important rol în rezistența organismului la infecții: fagocitele ingeră, omoară şi digeră cele mai multe microorganisme pătrunse în organism. Studiile inițiale ale

Scanned with OKEN Scanner

lui Metchnikoff au arătat pe de o parte că infecţiile se pot dezvolta atunci cînd microorganismul invadant este rezistent la înglobarea sa în fagocit sau este capabil să supravieţuiască în citoplasma acestuia; pe de altă parte, au scos în evidenţă strînsa corelaţie dintre macrofagele prezente în splină, ganglionii limfatici, măduva osoasă şi cele prezente în ţesutul conjunctiv; se ajunge astfel, pentru prima oară, la recunoaşterea caracterului sistemic al funcţiei fagocitare, celulele componente fiind înglobate în termenul de „sistem macrofagic".

Conceptul de „sistem" fagocitar a fost dezvoltat ulterior de către Aschoff (1924), care porneşte de la premisa că toate celulele care au origine, morfologie şi funcţii comune pot fi grupate împreună. În cazul macrofagelor, o asemenea grupare l-a condus pe autor la descrierea „sistemului reticuloendotelial" (SRE).

În 1949, Thomas a adus argumente pentru schimbarea termenului de sistem reticuloendotelial (SRE) în sistem reticulohistiocitar (SRH), termen dealtfel propus de către Volterra încă din 1927. După concepţia lui Thomas, în SRH trebuie cuprinse toate celulele care, la un moment dat, pot dobîndi o „stare histiocitară", devenind capabile să se deplaseze şi să efectueze o funcţie fagocitară. În acest caz, printre celulele potenţial histiocitare ar trebui cuprinse, alături de histiocitele ţesutului conjunctiv, şi alte celule ca cele din muşchii striaţi şi netezi, din măduvă, celulele Schwann, epiteliale etc. În afara „stării histiocitare", aceste celule ar fi stabile, fixe; altfel spus, histiocitul activ (sau orice celulă în „stare histiocitară") ar proveni din histiocite fixe sau din celule reticulare, prin activare (de aici, termenul de sistem „reticulohistiocitar"). Alături de capacitatea fagocitară, asemenea celule vor prezenta o mobilitate potenţială şi un turnover marcat al sintezei proteice, proces esenţial pentru proliferare şi creştere.

Studiile mai recente, în special cele histochimice şi de microscopie electronică, au arătat însă că — în macrofagele tipice (alveolare, peritoneale, ganglionare) — sinteza proteică este redusă, iar capacitatea de multiplicare de asemenea (frecvenţa mitozei: 0,5—2,5%). O activitate mitotică deosebit de marcată prezintă în schimb promonocitele din măduva osoasă, dintre care 50 pînă la 70% sintetizează DNA.

Pe de altă parte, studiile privind originea şi dezvoltarea embriologică a diferitelor formaţiuni morfologice, precum şi studiile de citokinetică (Furth, 1970; Volkman, 1970), efectuate la animale cu inflamaţie cronică, iradiate letal şi apoi supuse transplantului de măduvă osoasă, folosind markeri radioizotopici, antigenici sau cromosomiali, au demonstrat că originea comună a celulelor fagocitare este în măduva osoasă. Capacitatea fagocitară nu este expresia activării unei celule locale, ci rezultatul solicitării prin factori locali a unei celule unice, eliberată de măduva osoasă. Aici, în pulpa roşie, dintr-o celulă multipotenţială, se diferenţiază promonocitele, care, prin diviziune, dau naştere monocitelor. Acestea sînt preluate de sînge şi vehiculate în întregul organism, în aşa fel că — la nivelul organului care are condiţiile create pentru fagocitare — monocitul sanguin trece în ţesutul respectiv şi devine macrofag propriu-zis. Originea medular-osoasă şi filiaţia descrisă au fost în prezent bine elucidate pentru histiocitele ţesutului conjunctiv, pentru celulele Kupffer hepatice, pentru macrofagele alveolare, pentru macrofagele libere

Scanned with OKEN Scanner

şi cele fixe din ganglionii limfatici, splină, cavităţile seroase, sistemul nervos şi ţesutul osos (Furth şi colab., 1972).

Pentru aceste motive o nouă grupare a acestor celule, sub denumirea de „sistem mononuclear fagocitar" a fost recent propusă de către un grup de experţi O.M.S. (Furth şi colab., 1972; Langevoort, 1969).

Morfologia fagocitului mononuclear depinde într-o mare măsură de organul sau ţesutul în care este prezent. Însă o serie de caractere funcţionale uneşte aceste celule: a) capacitatea de a fixa pe suprafaţă şi apoi de a ingera particulele şi substanţele străine; b) capacitatea de a adera la sticlă; c) proprietatea de a fixa anticorpii citofili; d) particularitatea de a fagocita antigenele complexate cu imunoglobuline, în prezenţa sau în absenţa complementului etc. (cap. 5). Aceste caractere permit gruparea tuturor celulelor macrofagice într-un sistem funcţional bine definit; aceleaşi caractere funcţionale comune permit excluderea din acest sistem a altor celule, cu capacităţi fagice relative, dar lipsite de proprietăţile de a fixa şi purta Ig sau complementul: fibroblaştii, celulele reticulare, celulele endoteliale. Dealtfel, pentru aceste din urmă celule nici originea nu este comună cu cea a macrofagelor propriu-zise.

2) SISTEMUL LIMFOID

Ca şi pentru macrofage, originea celulelor limfoide este măduva osoasă, unde o celulă-mamă multipotenţială poate evolua şi diferenţia către limfocit. Această diferenţiere începe în măduva osoasă, dar se continuă şi se desăvîrşeşte extramedular, în alte organe, ca timusul, splina, ganglionii limfatici. În funcţie de anumiţi factori locali — „inductori" (asemuiţi de unii autori cu „hormoni" limfoido-diferenţiatori) — diferenţierea celulei-mamă se va face spre una din cele două principale linii limfocitare: *limfocitele T*, maturate în timus, şi *limfocitele B*, maturate direct în măduva osoasă sau în alte organe netimice.

Un model elocvent privind dinamica acestor diferenţieri a fost stabilit pe baza dezvoltării embrionare, studiată la şoareci în special de către Moore şi colaboratori (Moore şi Owen, 1967; Metcalf şi Moore, 1971). Celulele-mamă (progenitoare) pentru elementele sanguine apar într-o fază foarte timpurie a vieţii embrionare; ele sînt localizate în măduva osoasă şi migrează în diferite organe — ca ficatul fetal, timus, splină — în diferite stadii ale vieţii embrionare. În cazul timusului, celula-mamă multipotenţială invadează rudimentul epitelial al acestui organ încă din a 12-a zi a vieţii intrauterine, imediat ce are loc formarea invaginaţiei faringeale. Aceste celule-mamă care invadează rudimentul de timus, dacă sînt transferate într-un mediu corespunzător, se diferenţiază în leucocite sau eritrocite. Cîteva zile mai tîrziu, în timusul embrionar, celulele-mamă încep să se angajeze spre diferenţierea limfoidă; dacă în acest moment se transferă asemenea celule în culturi, ele vor da naştere numai la limfocite. Diferenţierea limfoidă a celulei-mamă se face deci în contact cu structura de bază (epitelial-reticulară) a organului respectiv; această reţea epitelial-reticulară elaborează un „inductor" care stimulează şi dirijează tipul de diferenţiere a celulei-mamă multipotenţială provenită din măduva osoasă.

Scanned with OKEN Scanner

Originea medular-osoasă a celulelor T este probată și de faptul că, la organismele depopulate limfocitar (prin iradiere adecvată), refacerea limfocitelor T nu se obține prin grefare de timus, ci prin transplantare de măduvă osoasă de la animale sîngeneice normale.

Rolul timusului în determinarea diferențierii celulelor limfocitare de tip T și acțiunea inductoare a „factorului timic" rezultă și din experiențe de felul celor întreprinse de Mandel și Russell (1971) la șoareci. Timectomizarea la naștere a acestor animale le lipsește de capacitatea de a răspunde imunitar, prin absența limfocitelor T. Dacă însă, după timectomie, animalelor li se grefează sub capsula renală fragmente de timus singeneic, organismele respective pot din nou să asigure diferențierea limfocitelor T.

La diferențierea și maturarea celulelor T nu intervine numai factorul timic, ci și o serie de alți factori extratimici. Astfel, la șoarece, în timp ce un limfocit T complet maturat deține la suprafața membranei sale citoplasmatice o serie de determinanți antigenici atît de tip θ și TL, cît și de tip H—2, limfocitele ieșite din timus conțin numai determinanți θ și TL. Rezultă deci că alți factori, extratimici, asigură apariția determinanților H—2, caracteristici limfocitelor T complet maturate. Dealtfel, această desăvîrșire extratimică a maturației coincide cu o recirculare frecventă a limfocitelor de origine timică, circulație care are loc între timus și diferite alte organe limfoide.

Factori „inductori" similari celui timic se găsesc și în alte organe limfoide, ca splina, ganglionii limfatici și, desigur, măduva osoasă. Acești factori însă dirijează diferențierea altui tip de celule limfocitare, celulele B, acelea care — în final — sînt răspunzătoare de producerea anticorpilor.

Filiația celulelor B dintr-o aceeași celulă-mamă, multipotențială, prezentă în măduva ososasă, a fost larg demonstrată de cercetările realizate la păsări, unde există un organ limfoid specializat, similar timusului, cunoscut sub numele de „bursa lui Fabricius" ; acest organ primește celule-mamă nediferențiate și eliberează limfocite B. La mamifere, în absența bursei, celulele B sînt maturate de organele limfoide. Un model experimental care pledează pentru originea medulară a celulelor B a fost utilizat de către Raff (1971), Janossy și Greaves (1971) etc., și constă din supunerea șoarecilor fără timus (congenital atimici sau timectomizați după naștere) la iradiere letală, care duce la distrugerea limfocitelor ; ulterior, se practică repopularea limfoidă a acestor organisme prin administrare de măduvă osoasă singeneică, pretratată cu ser anti-θ (pentru a omorî celulele T reziduale). În aceste condiții, șoarecii fără timus și iradiați dezvoltă numai limfocite de tip B.

În esență, rezultatele numeroaselor studii din ultimii ani asupra sistemului limfoid au demonstrat existența a două categorii largi de limfocite interesate în procesele imunitare, și anume :

a) *Limfocitele T*, formate la nivelul timusului și care, după eliberare în întregul organism, devin răspunzătoare de așa-numitele fenomene imunitare mediate celular : hipersensibilitatea întîrziată (sau de tip tuberculinic), procesele de distrugere a celulelor antigenice (celule-țintă), funcția de asistență (activitatea „helper") în procesele de producere a anticorpilor etc. Limfocitele T sînt stimulate de antigene, dar și nespe-

cific, printr-o serie de mitogeni ca fitohemaglutinina (PHA), concavalina A (Con. A) etc. Ele sînt însă rezistente la tratamentul cortizonic.

b) *Limfocitele B*, maturate atît direct la nivelul măduvei osoase, cît şi în celelalte organe limfoide, sînt celulele care, prin stimulare antigenică, vor da naştere plasmocitelor, celule formatoare de anticorpi. Limfocitele B sînt stimulabile şi nespecific, prin endotoxina bacteriilor Gram-negative (antigenul Boivin-Mesrobeanu) şi sînt sensibile la tratamentul cortizonic.

În ansamblu, sistemul limfoid este constituit din organele limfoide şi celulele limfocitare. Sub aspect morfologic, acestea din urmă prezintă fie o talie mică, fie mare, fie intermediară. Limfocitele mici se găsesc în proporţie de 86—91% din masa totală limfocitară sanguină şi constituie populaţia limfocitară imunologic activă, conţinînd atît celule B, cît şi T. Sub aspect imunologic, limfocitele T şi B posedă o serie de caractere funcţionale comune : a) sînt inactive în absenţa antigenului ; b) posedă pe suprafaţa lor receptori pentru antigene ; c) sînt radiosensibile ; d) după activare prin antigen, ambele intră rapid în cicluri mitotice repetate şi produc o serie de *celule efectoare*, care realizează în fapt răspunsul imun (fie prin celule, fie prin anticorpi secretaţi) ; e) preexpunerea la antigen poate altera răspunsul celulelor T şi B la restimularea cu antigen : fie că populaţia limfocitară respectivă ajunge să răspundă mai rapid la antigen (ceea ce denumim stare cu „memorie imunologică pozitivă"), fie că ajunge mai slab reactivă (stare cu „memorie imunologică negativă"), rezultînd o parţială sau completă „toleranţă imunologică" ; f) atît în populaţiile T cît şi în cele B, celulele individuale sînt eterogene în ceea ce priveşte specificitatea serologică a receptorilor de suprafaţă (a căror sinteză este dirijată de gena V).

B. STRUCTURA ORGANELOR LIMFOIDE

În organismele mamiferelor, timusul, ganglionii limfatici şi splina sînt organele limfoide, care deţin rolul principal în procesele imunitare. Sistemul limfoid are însă o repartizare generală, fiind prezent în diferite alte organe şi ţesuturi, sub formă de puncte limfoide, foliculi limfatici simpli sau aglomeraţi, plăci limfoide etc. Asemenea structuri limfoide se găsesc normal distribuite în ţesutul conjunctiv lax al diverselor organe, în corionul submucoaselor etc., şi au o frecvenţă deosebită de-a lungul tractului digestiv, începînd cu orificiul bucofaringian (unde realizează aşa-numitul „inel limfatic al lui Waldeyer").

1) TIMUSUL

Situat retrosternal, în partea superioară a mediastinului anterior, timusul formează pînă la pubertate un corp alungit, cu doi lobi, înconjurat de o capsulă. Aceasta trimite radiar, în interiorul organului, o serie de trabecule care separă lobii în mase mici, neregulat poligonale : lobulii timici. Lobulii sînt uniţi între ei prin cordoane fibrovasculare. Acest aranjament permite să distingem o arie periferică, *corticala*, de natură conjunc-

Scanned with OKEN Scanner

tivă, puternic colorabilă, şi o arie centrală, *medulara*, roz-cenuşie pe secţiune.

Corticala prezintă o densitate mare a limfocitelor mici; acestea sînt mai rare în medulară, unde dealtfel se pot observa şi o serie de celule reticulare. Deşi între corticală şi medulară nu există delimitări nete, ele se pot deosebi una de alta cu ajutorul coloranţilor adecvaţi. În corticală, în afară de numărul mare de limfocite mici, se mai pot observa limfocite „mari", cu citoplasmă relativ bogată, precum şi un număr important de celule în mitoză. În medulară se găsesc şi „corpusculii lui Hassall" care conţin celule aranjate în mod concentric, realizînd o structură care adesea este parţial hialinizată. Corpusculii lui Hassall par să aibă o origine locală, reticulară, deoarece sînt roentgen-rezistenţi şi, în culturi de celule, nu diferenţiază limfocitar.

În afara vascularizării sanguine închise, fiecare lobul timic conţine şi un vas limfatic care se termină printre elementele parenchimatoase, fără să mai aibă pereţi proprii, confundîndu-se cu spaţiile intercelulare.

În ceea ce priveşte diferitele localizări funcţionale timice, astăzi este demonstrat cu suficientă claritate că diferenţierea limfoidă a celulei multipotenţiale are loc la nivelul corticalei, sub influenţa unor factori locali, reticulari. Despre natura chimică a acestor factori nu se ştie încă prea mult; ei sînt activi şi în culturi de celule, dar ar fi posibil să nu aibă o structură hormonală, ci polinucleotidică (Beers şi Braun, 1971). Este de asemenea bine precizată recircularea limfocitelor T la nivelul timusului, precum şi influenţarea acestora de către alte organe limfoide în cursul perioadelor de circulaţie extratimică (Raff, 1971). Prea puţin însă se cunoaşte în prezent despre rolul timusului în perioada adultă, cînd ablaţia sa afectează totuşi populaţiile de limfocite mici, în ciuda faptului că involuţia ca organ a timusului adult este evidentă (Cantor, 1972).

2) GANGLIONII LIMFATICI

Între structura ganglionilor limfatici şi cea a timusului există mari similitudini. Şi la ganglioni, capsula conjunctivă trimite trabecule către interior, cu formarea de foliculi, în care limfocitele sînt aranjate într-o zonă corticală (periferică) şi o zonă medulară. În zona corticală, limfocitele sînt aglomerate sub formă de noduli de formă rotundă, constituind *foliculi limfoizi*, care sînt delimitaţi de zone clare, *sinusurile corticale perifoliculare*. În foliculi se găsesc atît limfocite, macrofage, plasmocite şi celule dendritice specializate, cît şi celule pe cale de diferenţiere, în mitoză. Acestea din urmă sînt situate cu precădere în mijlocul foliculului, constituind *centrul germinativ* al acestuia.

Zona medulară a ganglionului limfatic prezintă de asemenea insule limfoide, însă mai puţin dense şi separate prin o serie de cordoane şi sinusuri medulare largi. Zona medulară se termină în „hilul" ganglionului unde pătrund vasele sanguine şi ies limfaticele eferente. Limfaticele aferente, prevăzute cu valvule care asigură circulaţia limfei în sens unic, pătrund în ganglion la nivelul corticalei şi se termină în reţeaua deschisă a sinusurilor corticale. Acestea au legătură cu sinusurile medulare, care, la rîndul lor, se adună în limfaticele eferente.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările asidue din ultimii ani au putut preciza destul de bine circulaţia şi, implicit, interacţiunea diferitelor tipuri de celule limfoide. Este bine stabilit că, la cîteva zile după administrarea locală a unui antigen, în foliculii limfoizi ai ganglionului regional are loc o accentuare importantă a centrilor germinativi. Rapiditatea şi intensitatea dezvoltării centrilor germinativi este în funcţie de tipul de antigen administrat. Astfel, dacă este vorba de un antigen solubil simplu, care va dezvolta o imunitate de tip umoral (cu anticorpi circulanţi), activarea centrilor germinativi se observă net la 5—6 zile de la inoculare, iar în zilele 7—8 apar în medulară celule plasmatice în care — prin tehnici de imunofluorescenţă — pot fi puşi în evidenţă anticorpi specifici. În cazul cînd antigenul administrat va dezvolta o imunitate mediată celular, atunci modificările în ganglionul limfatic încep să fie vizibile încă din cea de a doua zi de la inoculare, cînd se constată creşterea masivă a foliculilor germinativi, suprafeţele ocupate de aceştia extinzîndu-se din corticală în medulară, fapt pentru care au fost denumite „arii paracorticale" (Oort şi Turk, 1965). În ziua 4 de la inoculare, aceste suprafeţe ajung să ocupe cam o treime din ganglionul limfatic; concomitent, în aceste arii apar numeroase celule pironinofile mari (de tip limfoblastic, denumite „imunoblaşti" de către unii autori), care ating 10% din numărul total al celulelor prezente, şi pînă la 20% din celulele prezente în aria paracorticală. În acest stadiu, medulara ajunge să fie mult comprimată, iar apariţia de rare plasmocite poate fi observată numai din zilele 6—7 (Turk, 1967).

Prin metode imunologice adecvate, antigenul inoculat poate fi pus în evidenţă, la scurt timp de la administrare, în foliculii limfoizi, pe suprafaţa celulelor foliculare dendritice specializate, care au şi capacităţi fagice (Gutman şi Weissman, 1971).

Centrii germinativi sînt constituiţi cu precădere din limfocite T (pătrunse prin circulaţia sanguină sau limfocitele aferente) şi multiplicarea lor are loc în contact cu antigenul. În acest sens pledează şi observaţia că, la şoarecii congenital atimici, lipsiţi de celule T, centrii germinativi sînt practic inexistenţi, indiferent de antigenul inoculat.

La nivelul foliculilor, limfocitele T pot interacţiona cu limfocitele B, cooperînd (activitate „helper") la diferenţierea acestora în plasmocite.

În cazul dezvoltării imunităţii umorale, foliculii limfoizi sînt constituiţi din celule B, aglomerate în jurul centrului germinativ format din limfocite T. În cazul instalării sensibilităţii mediată celular, nu numai centrii germinativi, dar şi foliculii, întreaga zonă paracorticală, conţine celule T.

3) SPLINA

Splina este un organ limfoid unic, cu talie mare, şi este dotată cu o structură similară cu aceea a timusului şi ganglionilor limfatici. Capsula, de natură colagenoasă, similară aceleia a multor organe, trimite trabecule în parenchimul splenic, separînd o serie de compartimente. Formaţiunile trabeculare sînt străbătute de vene trabeculare, care se deschid la acest nivel şi dau naştere la sinusuri. La aceste sinusuri sînt cuplate şi un număr mare de arteriole, formînd o veritabilă reţea, înconjurată de mici limfo-

Scanned with OKEN Scanner

cite; ansamblul acestor structuri este cunoscut sub numele de foliculul lui Malpighi. În centrul foliculului, în special în condiții de stimulare antigenică, se poate observa o serie de forme limfoblastoide (limfocite mari), în mitoză, care constituie „centrul germinativ" al foliculului.

Foliculii realizează așa-numita „pulpă albă" a splinei, care este înconjurată de „pulpa roșie", constituită din rețeaua de sinusoide splenice, burată cu diferite tipuri de celule : eritrocite (o mare proporție dintre ele îmbătrînite și pe cale de distrugere), numeroase macrofage, celule reticulare, limfocite, fibroblaști etc. La frontiera — gradat delimitată — dintre pulpa albă și pulpa roșie sînt amplasate cele mai multe limfocite, care indică filiația morfologică și funcțională dintre cele două structuri.

Ca și în cazul ganglionului limfatic, centrii germinativi ai foliculilor malpighieni splenici conțin limfocite T și B pe cale de diviziune, ca rezultat al stimulării antigenice. După diferențierea mitotică, celulele nou formate sînt canalizate spre periferia pulpei albe, pătrund în sinusuri și, de aici, în circulația generală.

Procese morfofuncționale similare au fost observate și în cazul celorlalte structuri limfoide din organism, cum sînt plăcile Peyer, apendicele cecal etc.

C. STRUCTURA ȘI FUNCȚIA CELULELOR CARE PARTICIPĂ LA PROCESELE IMUNITARE

Macrofagele, celulele limfoide și plasmocitele constituie tipurile de celule care participă nemijlocit la procesele imunitare. Macrofagul captează și degradează parțial antigenul, păstrînd intacte regiunile „nonself" ale acestor molecule, adică acelea care poartă „informația antigenică". Aceste resturi „nonself" antigenice, elaborate de macrofag, sînt transferate limfocitului, stimulîndu-l; ca rezultat, limfocitul se dediferențiază blastic și apoi intră în diviziune. Procesul de mitoză astfel declanșat are două consecințe : *a*) permite includerea și fixarea informației antigenice în genomul celulei limfocitare (care, astfel, devine celulă de memorie); *b*) realizează formarea de celule imunologic active : plasmocite, celule secretoare de anticorpi circulanți, și limfocite sensibilizate, celule efectoare în imunitatea mediată celular.

În sensul larg al termenului de „competență", toate cele 3 tipuri de celule — macrofage, limfocite și plasmocite — sînt incluse în denumirea de „celule imunocompetente", deoarece participă la procesele imune. În sensul strict al termenului, însă, noțiunea de „celulă imunocompetentă" este limitată la acele celule care au capacitatea de a se transforma în celule imunologic efectoare; în acest caz, numai celulele limfocitare — cu talie mică — pot fi considerate drept „competente imunologic". Delimitarea sub aspect terminologic este însă ceva mai dificilă, cel puțin în etapa actuală a cunoștințelor, deoarece pe de o parte verigile macrofag—limfocit—plasmocit sînt strîns legate între ele, iar pe de altă parte, într-o serie de aspecte ale procesului imun, macrofagul poate deveni celulă imunologic efectoare : datorită capacității de a fixa anticorpi citofili, mai

Scanned with OKEN Scanner

multe macrofage pot reacţiona cu o moleculă de antigen specific, formînd reţele de aglomerare celulară (cap. 7); ca rezultat al stării de hipersensibilitate celulară, capacitatea sa de a bloca antigenele corpusculare creşte specific şi este însoţită de transformare epitelioidă sau, în unele cazuri, chiar de diferenţiere limfoidă a mononuclearului macrofag (cap. 7). Posibilitatea delimitării stricte a termenului de celulă imunocompetentă este îngreunată şi de unele date mai recente privind limfocitele, care au scos în evidenţă o varietate mare a reactivităţii limfocitare şi o „competenţă" diferenţiată a unor subpopulaţii de limfocite mici: tipul de răspuns la antigenul specific al acestor subpopulaţii este condiţionat atît de originea (timică sau „bursală"), cît şi de condiţiile locale, tisulare, de maturare a limfocitului; în plus, s-a constatat la asemenea subpopulaţii un răspuns similar atît la stimulii antigenici specifici, cît şi la unii agenţi mitogeni nespecifici, ca PHA; în ambele situaţii, limfocitul poate elibera efectori moleculari farmacodinamic similari.

Independent însă de sensul în care poate fi aplicat termenul de „imunocompetenţă", printre celulele care participă nemijlocit la procesele imunitare trebuie incluse macrofagele, limfocitele şi plasmocitele. Descrierea lor trebuie să pună accentul pe caracterul funcţional deoarece, aşa cum este bine stabilit în prezent, caracterele structurale sînt mai puţin tipice, ele neputînd diferenţia între ele diferitele tipuri de limfocite.

1) MACROFAGELE (FAGOCITELE MONONUCLEARE)

Celulele fagocitare deţin în organism un important rol în mecanismele de apărare. Ele se împart în două mari categorii morfofuncţionale: fagocitele polimorfonucleare (granulocitele) şi fagocitele mononucleare (macrofagele). Din punct de vedere imunologic, aceste două categorii se deosebesc esenţial prin caracterele de cinetică fagocitară, granulocitele degradînd integral antigenele, în timp ce digestia macrofagică păstrează nedegradate părţile din moleculă ce conţin determinanţii antigenici.

Pe baza caracterelor morfofuncţionale, a originii lor şi a cineticii fagocitare, macrofagele au fost grupate într-un „sistem mononuclear macrofagic" (Furth şi colab., 1972), care reprezintă o reconsiderare, pe baza cunoştinţelor actuale, a „sistemului macrofagic" descris de Metchnikoff (1892), a „sistemului reticulo-endotelial" (Aschoff, 1924) şi a „sistemului reticulo-histiocitar" (Volterra, 1927; Thomas, 1949). În „sistemul mononuclear macrofagic" sînt incluse macrofagele circulante (monocitele), cele tisulare (libere sau fixate), ca şi celulele precursoare, din măduva osoasă. Aşa cum se remarcă din tabelul nr. 1, pe baza caracterelor morfofuncţionale ale celulelor macrofage, au fost excluse din acest sistem celulele reticulare, cele dendritice, endotelialele şi fibroblaştii.

Promonocitul, celulă imatură, în multiplicare, poate fi identificat în măduva osoasă şi, prin diviziune, dă naştere la monocite. Acestea pătrund în sîngele circulant şi pe această cale ajung la nivelul ţesuturilor unde există condiţii favorabile fagocitozei, care realizează maturarea monocitului în macrofag. Filiaţia promonocit—monocit circulant—macrofag tisular a fost bine demonstrată în prezent pentru ţesutul conjunctiv (histiocite), ganglionii limfatici, cavităţile seroase, ficat, plămîni, splină;

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul nr. 1

Caracterele celulelor din „sistemul fagocitar mononuclear"

Caracterul	Promonocite	Monocite circulante	Macrofage tisulare	
			libere	fixate
Localizarea	măduva oaselor (împreună cu celulele precursoare)	sîngele periferic și măduva oaselor	țesut conjunctiv (histiocite); ficat (celule Kupffer); plămîni (macrofage alveolare; splină și ganglioni limfatici (macrofage libere și fixate); cavități seroase (macrofage pleurale și peritoneale); măduvă osoasă, țesut osos (osteoclaste); sistem nervos (microglie)	
Diametrul celular (μm)	14—20	10—14	10—25	?
Raportul nucleu/citoplasmă	⩾1	1	<1	<1
Forma nucleului	cutat sau crestat	reniform	reniform sau oval	reniform sau oval
Sinteza de DNA (%)	50—70	0—1	0,5—3	1,5—2,5
Prezența poliribosomilor	+++	+	±	±
Reticul endoplasmic	+	+	++	++
Aparat Golgi	mare	mic	mărime variabilă	mărime variabilă
Mitocondrii	++	++	+++	+++
Lizosomi	+	+	+++	+++
Vezicule endocitare	+	+	+++	+++
Membrană de suprafață crestată	++	+++	++++	
Microvili	+	++	+++	+++
Aderență la sticlă	+++	+++	++++	
Capacitatea pinocitară	+	++	+++	+++
Fagocitoza imună	++	+++	++++	++++

dar pentru cazul osteoclastelor și microgliilor dovezile existente sînt încă lacunare (Furth și colab., 1972).

În funcție de localizarea de organ a macrofagelor, caracterele lor fagocitare și metabolice prezintă anumite specializări. Astfel, spre exemplu, există diferențe în capacitatea discriminatorie fagocitară manifestată de celulele Kupffer și macrofagele splenice, primele reținînd cu precădere hematiile distruse și substanțele coloidale, în timp ce macrofagele splenice fagocitează dominant antigenele corpusculare bacteriene. În același sens, capacitatea celulelor Kupffer de a prelucra și păstra informația antigenică este mult mai redusă decît cea a macrofagelor splenice (Franzl, 1962). Pe de altă parte, în ciuda faptului că macrofagele alveolare au un conținut în enzime hidrolazice de circa 10 ori mai mare decît cele peritoneale, acestea din urmă au o eficiență bactericidă mai crescută (Pavillard, 1963); explicația acestei discrepanțe trebuie căutată atît în starea de stimulare continuă a macrofagelor alveolare, cît și în faptul că, pentru a obține energia necesară proceselor fagocitare, macrofagele peritoneale depind numai de glicoliza anaerobă, pe cînd cele alveolare (ca și celulele Kupffer) necesită și fosforilarea oxidativă (Oren și colab., 1963).

După cum s-a menționat, „maturarea" monocitului sanguin în macrofag tisular este un proces funcțional, ce are loc sub influența condi-

ţiilor locale, prin solicitarea fagocitării unor substanţe străine pătrunse în organism (antigene) sau rezultate din degradarea unor celule proprii organismului (celule senescente, hematii îmbătrînite, structuri celulare alterate, celulele clonale rezultate din mutaţii aberante etc.). Aspectul morfologic al macrofagelor va diferi, desigur, într-o anumită măsură, în funcţie de organul în care se diferenţiază : plămîn, ficat, splină etc. Specializarea funcţională asigură însă o serie de caractere comune tuturor celulelor macrofagice : o talie celulară relativ mare (10—25 μm), un nucleu reniform sau oval cu un singur nucleol şi cromatina dispersată în fragmente mici (fig. 1), cu citoplasmă bogată care conţine ribosomi şi un număr relativ redus de poliribosomi, cîţiva saci ergastoplasmici şi un aparat Golgi slab dezvoltat, format în general din mici vezicule. Un aspect dominant în citoplasma macrofagului îl constituie prezenţa formaţiunilor lizosomale, granule dense, de talie şi formă variabile, care fixează acridin-oranjul devenind fluorescente (fig. 2) şi care conţin hidrolaze acide, asigurînd digestia intracelulară a substanţelor fagocitate ori pinocitate. Numărul lizosomilor şi cantitatea de hidrolaze ce le conţin creşte masiv odată cu „stimularea" macrofagului prin prezenţa antigenului sau imunizare (Păunescu şi colab., 1971). (Rolul sistemului lizosomal în procesele de fagocitoză şi digestie macrofagică este descris în cap. 5).

Conţinutul redus în poliribosomi al citoplasmei macrofagelor, aparatul Golgi slab dezvoltat şi formaţiunile ergastoplasmice reduse demonstrează o sinteză proteică mică la nivelul acestor celule, ceea ce este în acord cu faptul că macrofagul nu sintetizează anticorpi. În schimb, în momentul „activării" macrofagelor prin stimularea funcţiei fagocitare se observă o dezvoltare a sistemului „poliribosomi—aparat Golgi—ergastoplasmă", care coincide cu creşterea numărului de lizosomi şi a potenţialului litic al celulei. Devine evident astfel că enzimele hidrolazice lizosomale sînt sintetizate suplimentar în citoplasma macrofagului, odată cu stimularea funcţiei fagocitare.

Suprafaţa celulei macrofagelor are un contur neregular (fig. 1), datorită mobilităţii sale accentuate. Crenelările variate şi microvilii pe care îi formează asigură condiţiile necesare unor foarte intense procese de absorbţie la nivelul suprafeţei celulare macrofagice. Aceste procesele de absorbţie pot fi grupate în trei categorii — fagocitoză, pinocitoză şi micropinocitoză (cap. 5) — după talia materialului adsorbit.

Alături de procesul de absorpţie (fagocitare-pinocitare), structura membranei citoplasmice a macrofagului permite realizarea altor procese caracteristice pentru fagocitul mononuclear : *a*) aderenţa rapidă şi fermă la sticlă, la fibre de bumbac, plastic etc. ; *b*) fixarea anticorpilor citofili circulanţi (7 S γ_2) ; *c*) colorabilitatea intracelulară cu coloranţi vitali (roşu neutru, acridin-oranj) etc.

Pe scurt, ceea ce caracterizează o celulă macrofagică este capacitatea sa de a fagocita şi digera parţial antigenele, de a adera la sticlă şi fibre diverse, de a fixa anticorpi citofili, de a se colora cu coloranţi vitali ; acestor caractere funcţionale le corespund o serie de structuri morfologice adecvate, printre care : o membrană de suprafaţă foarte mobilă, ce poate da microvili, o serie de formaţiuni intracitoplasmice bogate în enzime litice (lizosomii) şi un sistem de sinteză proteică slab dezvoltat.

Scanned with OKEN Scanner

2) CELULELE LIMFOIDE

Sub denumirea generală de celule limfoide sînt grupate mai multe tipuri de celule, care au între ele raporturi de filiație : limfoblaști, limfocite mari, mijlocii și mici. Timp îndelungat s-a considerat că limfoblaștii ar fi precursorii limfocitelor mari, care ar da naștere limfocitelor mijlocii, iar acestea celor mici. După această ipoteză, limfocitul mic ar fi o celulă „sfîrșit de serie", complet maturată, fixată, senescentă, destinată dispariției în scurt timp. Prin marcare cu radioizotopi, s-a constatat însă că limfocitele mici sînt o populație neomogenă și că timpul lor de persistență în sîngele circulant este variabil : există unele *limfocite cu viață scurtă*, iar *altele cu durată lungă*. Pe de altă parte, faptul că în culturi de celule în prezența PHA, a endotoxinei sau altor agenți mitogeni unele limfocite mici suferă o diferențiere blastică urmată de diviziune, demonstrează că limfocitul mic nu este o celulă sfîrșit de serie, ci dimpotrivă este deosebit de reactivă în prezența unor stimuli adecvați. Limfocitul mic este veritabila celulă imunocompetentă, dotată atît cu calitatea de a da naștere celulelor imunologic efectoare, cît și cu proprietatea de a „memoriza" (și deci de a recunoaște ulterior) o anumită informație antigenică.

Limfocitul mic este o celulă cu talie mică, cu un nucleu voluminos și dens, cu citoplasmă redusă și, deci, cu un raport nucleo-citoplasmic mult supraunitar. Cromatina nucleară este dispusă în mici fragmente, aglomerate una în alta, mascînd adesea un nucleol cu aspect compact (fig. 1). La o cercetare atentă, se poate observa că nucleul prezintă o incizură profundă, în care pătrunde citoplasma. Aceasta are un conținut sărac în organite prezentînd cîteva mitocondrii, un mic număr de ribosomi liberi, un aparat Golgi redus și absența oricărei structuri ergastoplasmice. După cum rezultă din aceste observații, limfocitul mic prezintă o simplificare deosebit de avansată a structurilor sale citoplasmice, ceea ce pledează și sub acest aspect morfologic pentru considerarea lui ca o celulă nediferențiată ; trebuie subliniat că — în cazul diferențierii celorlalte celule sanguine — maturarea are loc cu dezvoltarea importantă și specializarea anumitor organite celulare ca în cazul plasmocitelor.

Suprafața și structura membranei citoplasmice limfocitare prezintă un interes mai deosebit pentru înțelegerea unor mecanisme imunologice fundamentale, așa cum au arătat o serie de lucrări recente (Taylor și colab., 1971 ; Allison, 1972). Morfologic, la suprafața limfocitului se pot observa mici voaluri hialoplasmice care, rabatîndu-se, înglobează mici picături din mediul ambiant, asigurînd pătrunderea lor în celulă ; este vorba de un proces de micropinocitoză, similar cu cel descris la macrofag (cap. 5). Însă, spre deosebire de celula macrofagică, limfocitul nu prezintă capacități fagocitare, iar micropinocitarea pare să fie selectivă, ea realizîndu-se printr-un mecanism particular și numai în cazul substanțelor ce au afinitate pentru structura specializată a membranei de suprafață a limfocitului. Ca și în cazul altor celule, membrana citoplasmică a limfocitului prezintă o structură bazală lipidică bistratificată, intercalată cu macromolecule proteinice ; în cazul limfocitului mic, însă, macromoleculele proteinice au o structură imunoglobulinică (cap. 4). Aceste proteine sînt reținute la membrană prin grupe funcționale hidrofobe ce interacționează cu lanțurile alifatice ale stratului dublu lipidic de bază al membranei

Scanned with OKEN Scanner

(fig. 3). În plus, sub membrană, imunoglobulinele sînt legate de microfilamente de tip actomiozinic, care le păstrează relativ ataşate de structurile intracelulare. Moleculele de Ig plutesc ca nişte icebergiuri în „oceanul" structurii lipidice bistratificată, lăsînd libere la suprafaţa membranei citoplasmatice o serie de grupări hidrofile (fig. 3 D). Din punct de vedere imunologic, aceste grupări libere imunoglobulinice de la suprafaţa limfocitelor au o dublă valoare : pe de o parte pot realiza fixarea determinanţilor antigenici cu care limfocitul vine în contact, iar, pe de altă parte, dacă limfocitul respectiv este transferat într-un organism eterolog, aceste grupări imunoglobulinice pot deveni ele însele determinanţi antigenici.

Imunoglobulinele încrustate în structura lipidică bistratificată a membranei citoplasmice limfocitare prezintă o mare mobilitate de translaţie, care poate fi stimulată în condiţii variate. Această migrare laterală a moleculelor de Ig este mult uşurată de faptul că structura lipidică de bază manifestă o mare fluiditate la temperatura de 37°C. Aşa cum subliniază Raff şi De Petris (1972), membrana limfocitară are mai curînd proprietăţile unui lichid bidimensional decît cele ale unui solid deformabil bidimensional şi conţine o serie de unităţi mobile (Ig), care plutesc într-o mare lipidică.

Mobilitatea structurilor Ig de la suprafaţa limfocitului permite înţelegerea unui mare număr de mecanisme, printre care cele ce încep cu fixarea moleculelor antigenice (Taylor şi colab., 1971). În momentul în care o asemenea moleculă, posedînd mai mulţi determinanţi antigenici, vine în contact cu suprafaţa limfocitului, fiecare determinant antigenic se poate cupla cu o moleculă distinctă de Ig, ceea ce duce la aglomerarea mai multor molecule de Ig împreună (fig. 4). Formaţiunea rezultată, cunoscută sub numele de „petec" („patch"), are tendinţa de a migra lateral, în regiunea uropodului celular (polul golgian), unde comasează cu alte asemenea „petece", realizînd formaţiunea denumită „bonetă" (fig. 4). Ulterior, printr-un mecanism de invaginare a întregii zone ce poartă „boneta", are loc endocitarea acesteia şi formarea unei vacuole constituită din complexul Ig-antigen. Ca urmare a endocitării antigenului, celula limfocitară este stimulată şi se declanşează procesele de transformare blastică şi mitoză.

La procesul de migrare laterală a structurilor Ig şi, mai ales, la mecanismul de endocitoză a „bonetei", contribuie şi microfilamentele actomiozinice, aşa cum rezultă din faptul că substanţele ce inhibă funcţionalitatea acestor microfilamente (citocalazina B) blochează în bună măsură şi formarea „bonetei", ca şi micropinocitarea antigenului de către limfocit (Orr şi colab., 1971). La aceste procese pare să contribuie şi un alt sistem efector metabolic şi anume sinteza de adenozin-monofosfat-3',5'-ciclic (cAMP), reglată prin activarea adenilciclazei. Acest sistem „adenil-ciclază-cAMP", care are rol energetic prin activarea protein-kinazelor fosforilante, funcţionează de obicei sinergic cu sistemul microfilamentelor actomiozinice contractile.

Structurile imunoglobulinice de la suprafaţa limfocitelor mici nu sînt identice pentru toate celulele de acest tip. O primă condiţionare structurală este realizată de profilul genetic al individului şi de clona, genetic determinată, din care provine fiecare celulă limfocitară. O altă importantă

Scanned with OKEN Scanner

diferenţiere a acestor structuri este determinată de *originea* celulei limfocitare.

După cum s-a menţionat anterior, cercetările întreprinse cu o largă gamă de tehnici, la animale iradiate la care s-a grefat măduva osoasă, şi în special studiile asupra dezvoltării embriologice corelate a diferitelor organe şi sisteme au permis diferenţierea populaţiilor de limfocite mici în două categorii cu reactivitate imunologică diferită : *celulele T*, derivate din timus, responsabile de fenomenele de imunitate mediată celular şi *celulele B*, derivate direct din măduva osoasă (iar la păsări din formaţiunea bursală), implicate în fenomenele de imunitate umorală. Structurile imunoglobulinice de la suprafaţa acestor celule sînt diferite nu numai ca densitate (la limfocitele T fiind mai puţin dense), dar şi ca complexitate : în timp ce moleculele Ig* de pe suprafaţa limfocitelor B sînt lanţuri γ complete de IgG, cele de pe suprafaţa celulelor T sînt constituite numai din lanţuri H(μ) (cap. 4). În plus, celulele B pot secreta moleculele de Ig de la suprafaţa lor : reînnoirea acestora are loc în medie la fiecare 2 ore, o celulă B secretînd cam 50 000 molecule de Ig într-o oră (adică de aproximativ 100 de ori mai puţin decît rata sintezei de Ig în cazul plasmocitului).

Pe structurile Ig de la suprafaţa limfocitelor se pot fixa antigenele, mitogenii nespecifici sau auto-anticorpii. Conform concepţiei actuale, susţinută prin date experimentale de către Mitchison (1971) şi alţi cercetători, celulele T fixează şi înglobează antigenele cu partea lor „purtătoare", lăsînd liberă partea haptenică (cap. 3), care — prin contact intercelular — este prezentată limfocitelor B. Acesta ar fi unul din mecanismele posibile ale activităţii „helper" a celulelor T pentru celulele B şi ipoteza este sprijinită, printre altele, de specificitatea particulară a celulelor T pentru purtător, spre deosebire de sensibilitatea marcată a celulelor B pentru haptenă (Păunescu, 1972).

Reacţia de transformare a limfocitului stimulat a fost studiată *in vivo* şi *in vitro*, sub acţiunea antigenelor specifice sau a agenţilor mitogeni nespecifici (PHA, Con. A, endotoxină, PPD etc.). În prezenţa acestor substanţe, cea mai evidentă modificare morfologică prin care pare să răspundă limfocitul este transformarea sa blastică. Morfologic, limfoblastul este o celulă mare (15—30 μ ca diametru), bazofilă, cu un raport citoplasmă/nucleu mare. Are un nucleu leptocromatic, cu nucleoli vizibili. Limfoblastul este adesea descris ca o „celulă pironinofilă", ceea ce înseamnă că se colorează în roşu cu pironină, colorant cu afinitate selectivă pentru RNA. Pironinofilia limfoblastului corespunde unui număr mare de ribosomi liberi şi formaţiuni poliribosomale prezente în citoplasma lui.

---

*) Fiecare moleculă de Ig conţine două lanţuri grele (H) şi două lanţuri uşoare (L), legate între ele prin punţi disulfurice, punţi de hidrogen, legături electrostatice şi legături hidrofobe (cap. 4). Atît lanţurile H (polipeptide conţinînd 440 de aminoacizi), cît şi lanţurile L (214 aminoacizi) sînt formate din două părţi distincte : una N-terminală, care este „variabilă" în ceea ce priveşte secvenţa aminoacizilor componenţi ; alta C-terminală, care are o secvenţă constantă a aminoacizilor componenţi. După părţile constante (care poartă o specificitate antigenică comună), lanţurile L pot fi împărţite în două tipuri (kappa şi lambda), iar lanţurile H pot fi grupate în 5 tipuri de specificitate antigenică : γ (pentru IgG), μ (pentru IgM), α) pentru IgA), ε (pentru IgE) şi δ (pentru IgD).

Scanned with OKEN Scanner

Desigur, modificările morfologice sînt inițiate de o serie de modificări metabolice ale celulei, care încep cu activări ale metabolismului fosfolipidic, legate de intensificarea schimburilor și transformărilor la nivelul membranei celulare, se amplifică prin sinteză de RNA și declanșează în final sinteza de DNA, care asigură procesele mitotice (Fisher și Mueller, 1968; Rabinowitz și Wilhite, 1969).

Proliferarea limfocitară inițiată de mitogeni duce la dezvoltarea unei serii de blaști intermediari care, în final, dau naștere fie la celule de tip T efectoare (sau „limfocite T_2", după nomenclatura propusă de Cantor și școala din Londra), fie la plasmocite, celulele secretoare de anticorpi. Finalitatea transformării blastice a limfocitelor depinde atît de originea limfocitelor stimulate (timice sau extratimice), cît și de natura agentului mitogen : PHA și Con. A stimulează numai limfocitele T, în timp ce endotoxina stimulează limfocitele B (Greaves și Janossy, 1972).

Morfologic, între celulele T și B nu se pot evidenția deosebiri. După activare cu mitogeni adecvați apar însă unele modificări morfologice în citoplasma limfoblaștilor B, care evidențiază o mai mare densitate de poliribosomi și un reticul endoplasmic și o serie de saci ergastoplasmici bine dezvoltați (fig. 5); în contrast, limfoblaștii T (fig. 6) nu prezintă modificări evidente (Harris și colab., 1966; Greaves și Janossy, 1972). Aceste caractere morfologice ale limfoblaștilor T și B sînt în acord cu structura morfologică a celulelor efectoare cărora le vor da naștere : celulele T-efectoare, care nu prezintă modificări evidente față de limfocitul mic, și plasmocitul — derivat din limfocitul B —care arată modificări morfologice importante.

3) PLASMOCITUL

Plasmocitul este celula specializată pentru sinteza și secreția de anticorpi circulanți. Ca și limfocitele, plasmocitele sînt răspîndite în tot țesutul limfoid : ganglionii limfatici, splină, plăcile Peyer, măduva osoasă, și alte organe limfoide, precum și la baza vilozităților mucoasei intestinale, în jurul capilarelor sanguine, în epiploon și țesutul conjunctiv.

Plasmocitul prezintă toate caracterele morfologice ale unei celule specializată pentru sinteza și secreția de proteine (fig. 7) : polisomi foarte numeroși, ergastoplasmă deosebit de abundentă și un aparat Golgi mult dezvoltat, burat cu granule de secreție.

Plasmocitele au un nucleu cu contur oval, așezat excentric în citoplasmă, cu aspect caracteristic, în „roată de car". Masele periferice de cromatină sînt aderente la membrana nucleară, formată din două foițe străbătute de numeroși pori, la al căror nivel cele două foițe ale membranei fuzionează. Porii, la rîndul lor, sînt obstruați de o membrană fină, care controlează schimburile metabolice nucleocitoplasmice. Foița externă a membranei nucleare este tapisată, pe fața sa citoplasmică, cu numeroși ribosomi, ceea ce realizează contactul strîns al ergastoplasmei cu nucleul. Ergastoplasma ocupă practic toată citoplasma, cu excepția unei mici zone — „aria clară paranucleară" — care corespunde centrosferei înconjurată de aparatul Golgi. Ergastoplasma este formată dintr-o serie de saci, care, pe măsură ce sinteza proteică se amplifică, capătă un aspect

de dilatare, prin umplere cu proteinele sintetizate. La exteriorul sacilor ergastoplasmici se observă o mare aglomerare de ribosomi asociați în rozete, lanțuri sau spirale.

Aparatul Golgi este foarte dezvoltat în plasmocitul adult, care secretă imunoglobuline. El înconjură centrosfera, care conține doi centrioli, constituind două calote formate din saci cu pereți netezi. Dintre aceștia, cei periferici conțin o mare densitate de proteine, constituind viitoarele granule de secreție.

Mitocondrii de talie mare se află distribuite printre sacii ergastoplasmici și au densitate mai mare în jurul centrosferei, aproape de aparatul Golgi.

Sinteza imunoglobulinelor în plasmocitul adult este semnalată de marea densitate a poliribosomilor în citoplasmă. Proteinele rezultate sînt temporar depozitate în ergastoplasmă, care și ea este puternic dezvoltată. În cursul proceselor de hiperimunizare, imunoglobulinele sintetizate se acumulează în cantități foarte mari, sacii ergastoplasmici se dilată mult (aspect de „cisternă") și poate avea loc o astfel de condensare încît proteina cristalizează. În aceste condiții, plasmocitele prezintă — pe frotiu colorat cu Giemsa — corpi intracitoplasmici colorați puternic în roz-violaceu (așa-numiții „corpi ai lui Russell") sau chiar incluziuni cristaloide, în formă de bastonaș, fus, ace sau poligoane.

Conținutul incluziunilor cristaloide s-a dovedit a fi format din cristale propriu-zise de proteină deoarece sînt birefringente în lumină polarizată și, la microscopul electronic, arată prezența de structuri periodice, corelate cu planurile reticulare ale cristalului. Dacă se ține seama de dificultățile întîmpinate în laborator pentru a obține cristalizarea unei proteine, prezența în ergastoplasma plasmocitului de cristale de imunoglobuline dovedește că proteinele din aceste organite citoplasmice sînt sintetizate într-o stare pură și au densitate mare.

Secreția imunoglobulinelor plasmocitare are loc prin intermediul aparatului Golgi, unde moleculele de Ig ajung prin mici vezicule care burjonează la suprafața sacilor ergastoplasmici. Formarea acestor mici vezicule are loc pe sacii din vecinătatea aparatului Golgi, în zona citoplasmică lipsită de ribosomi. Aici, mai multe vezicule fuzionează și dau naștere sacilor externi, cuprinși în formațiunea golgiană. Din acești saci, amplasați pe fața concavă a aparatului Golgi, prin tasare și fragmentare, se formează mici sferule, înconjurate de o fină membrană : granulele de secreție.

Granulele de secreție, eliberate în citoplasmă, ajung la nivelul membranei periferice, unde membrana granulelor fuzionează cu cea celulară și are loc o deschidere care permite vărsarea conținutului Ig al granulelor în mediul extracelular. Spre deosebire de procesele pinocitare, excreția este un fenomen care crește tensiunea de suprafață a celulei.

În anumite cazuri, și mai ales în stările de hiperimunizare și solicitare antigenică continuă a țesutului limfoid, secreția de Ig plasmocitar are loc printr-un proces de *clasmatoză* : emisia de către celulă a unor fragmente de citoplasmă. Aceste fragmente, anucleate, se izolează prin burjonare, apoi se detașează de celulă și, odată libere, suferă un proces de liză, punînd în libertate conținutul sacilor ergastoplasmici. Clasmatoza este deci un mecanism similar holomerocriniei (antrenarea unei părți de citoplasmă odată cu produsul de secreție) și duce la eliberarea masivă

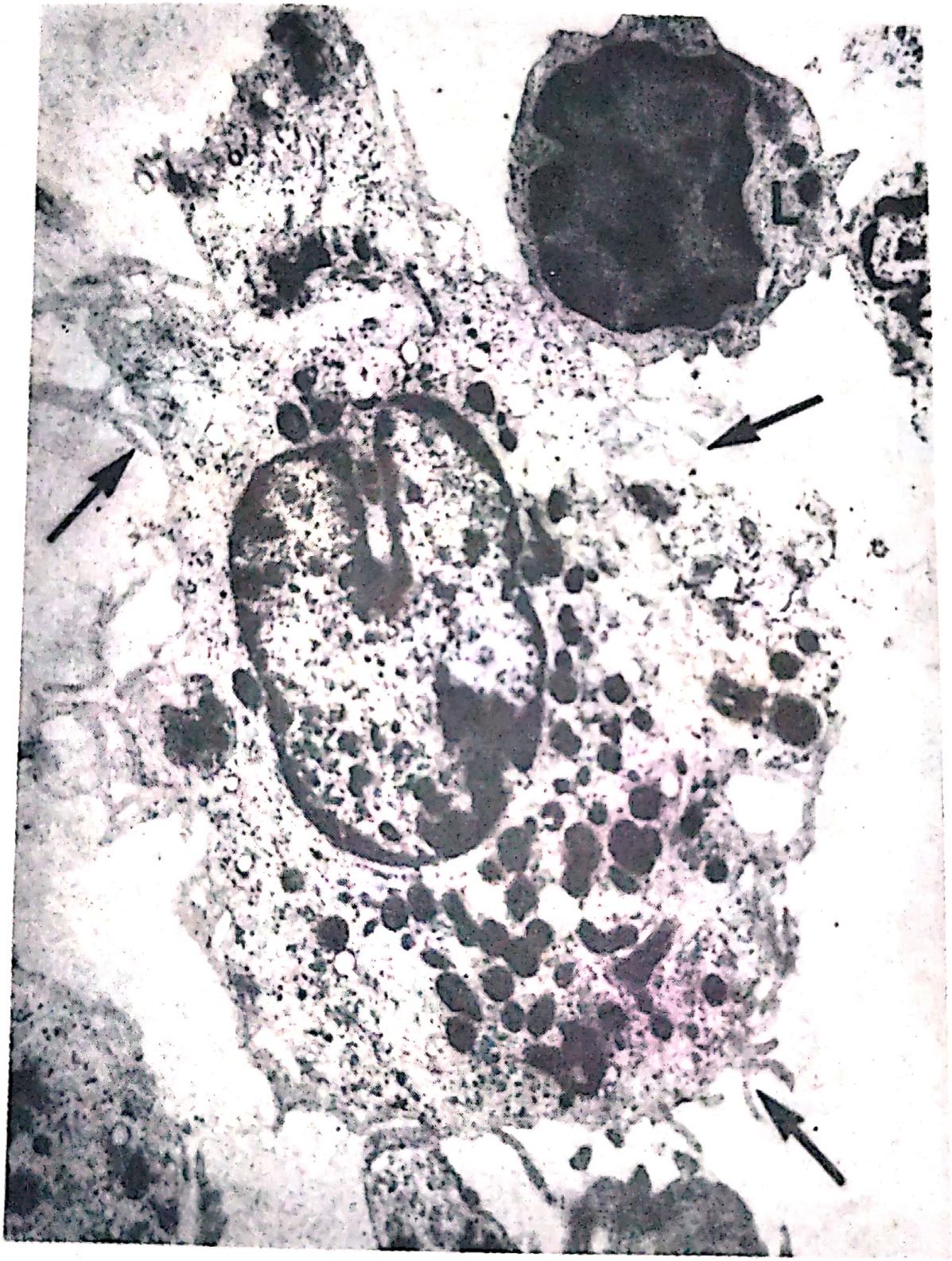
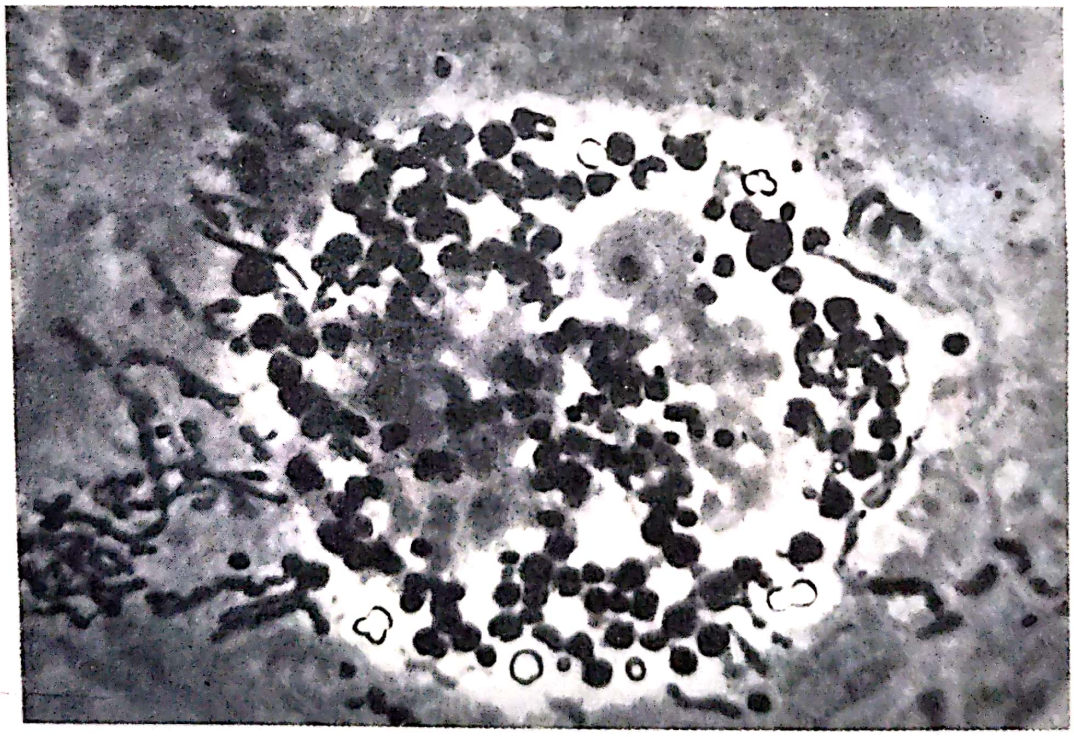


Fig. 1. — Structura celulei macrofagice (în centru) și a limfocitului mic (L). Săgeţile marchează voaluri hialoplasmice pe cale de a forma vezicule pinocitare. În citoplasma macrofagului se observă un mare număr de incluziuni (lizosomi), care în citoplasma limfocitului sînt foarte rare.

Scanned with OKEN Scanner

a



b

Fig. 2. — Structuri lizosomice macrofagice.
a — coloraţie cu acridin-oranj şi examinare fluorescentă; *b* — examinare cu contrast de fază.

Scanned with OKEN Scanner

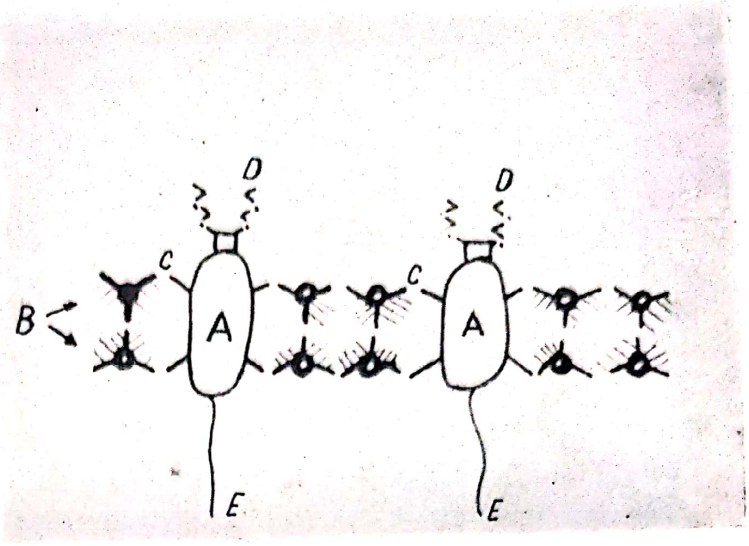


Fig. 3. — Structura schematică a membranei citoplasmice limfocitare.

A — macromoleculă proteinică (Ig); *B* — structură lipidică bistratificată; *C* — legături hidrofobe; *D* — legături hidrofile; *E* — microfilament actomiozinic.

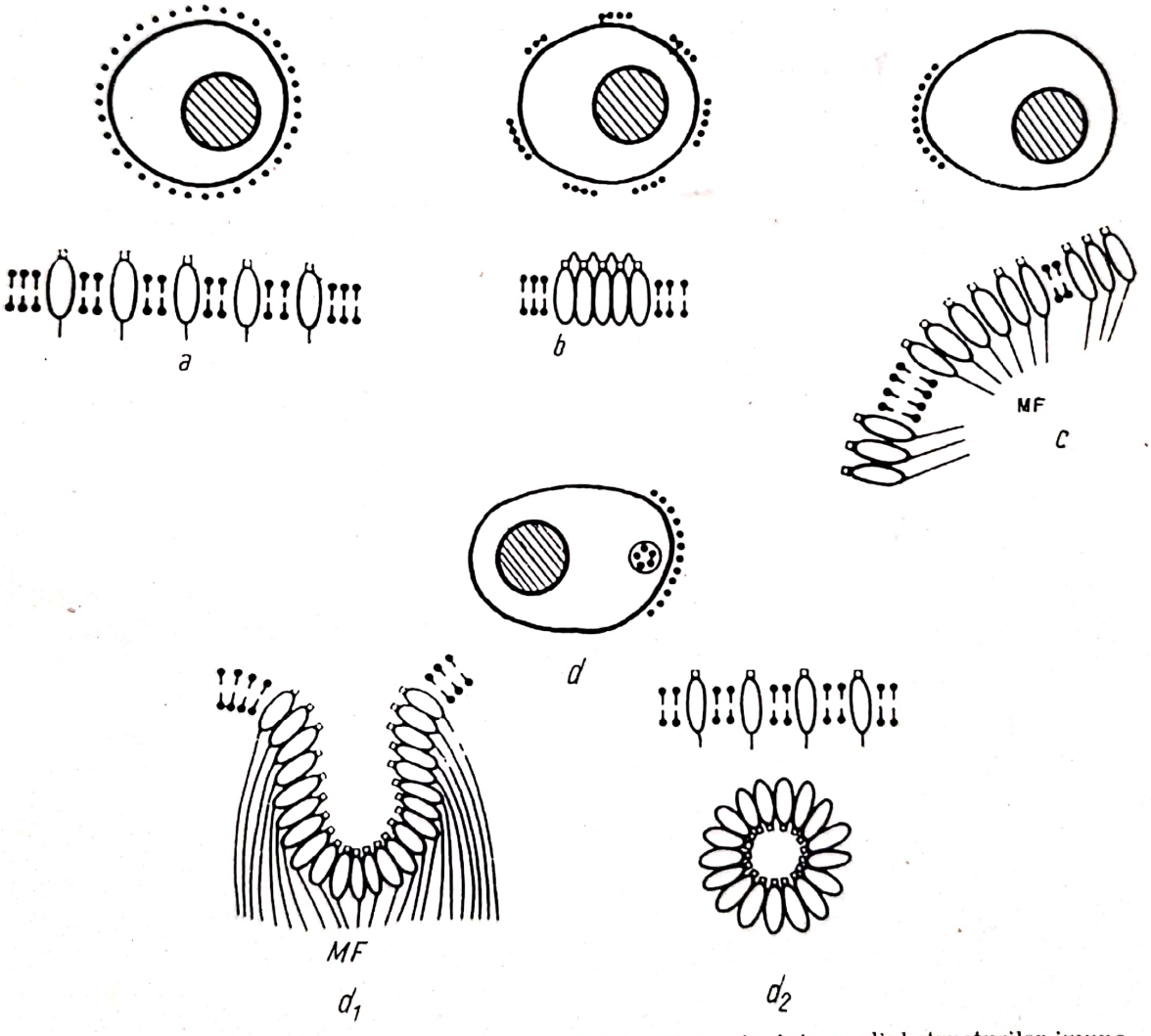


Fig. 4. — Procesul de fixare și endocitare a antigenului prin intermediul structurilor imunoglobulinice ale membranei limfocitare.

a — structura normală a membranei limfocitare; *b* — aglomerarea mai multor structuri Ig care au reacționat cu antigenul (formațiuni „petice"); *c* — migrarea complexelor Ig—antigen la uropolul celular (formațiunea „bonetă"); *d* — invaginarea (d_1) și endocitarea (d_2) „bonetei"; *MF* — microfilament actomiozinic.

Scanned with OKEN Scanner

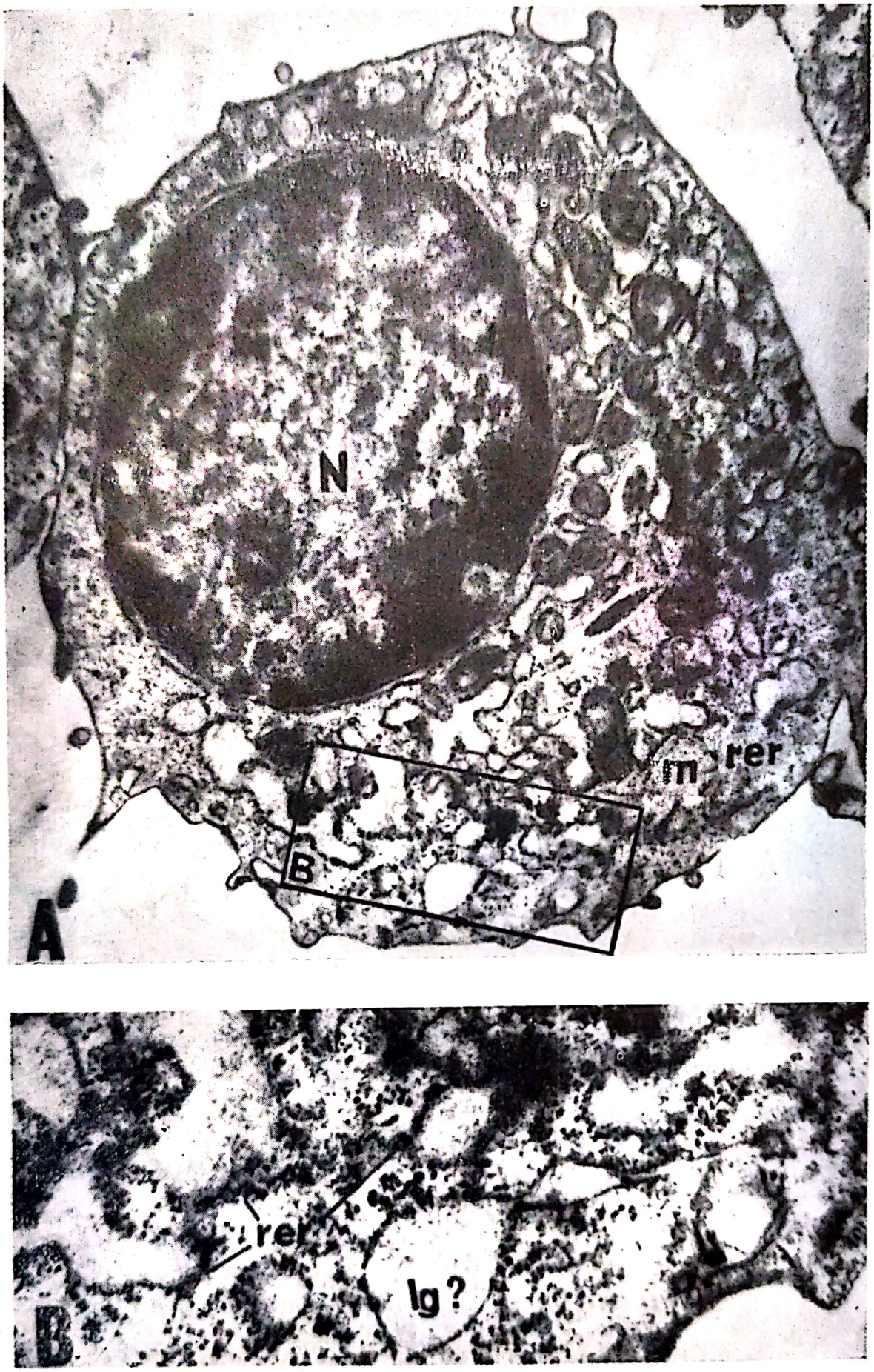


Fig. 5. — Limfoblast B (imagine electronoptică). *N* — nucleu; *re* — saci ergastoplasmici, probabil conţinînd imunoglobuline (*Ig*) (A × 15 800; B × 38 500).

Scanned with OKEN Scanner

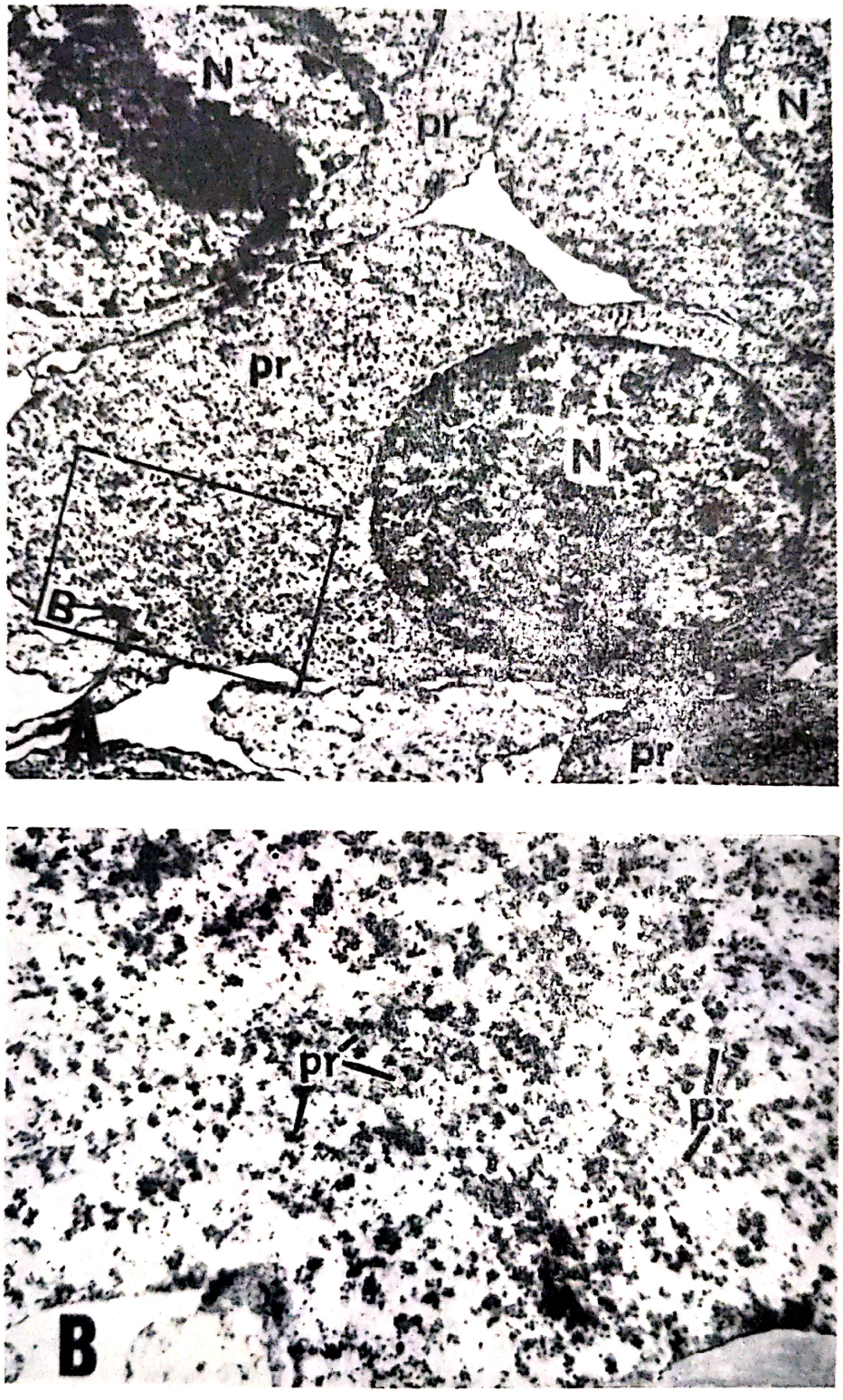


Fig. 6. — Limfoblast T (imagine electronoptică). *N* — nucleu ; *pr* — poliribosomi (A × 10 000 ; B × 38 500).

Scanned with OKEN Scanner

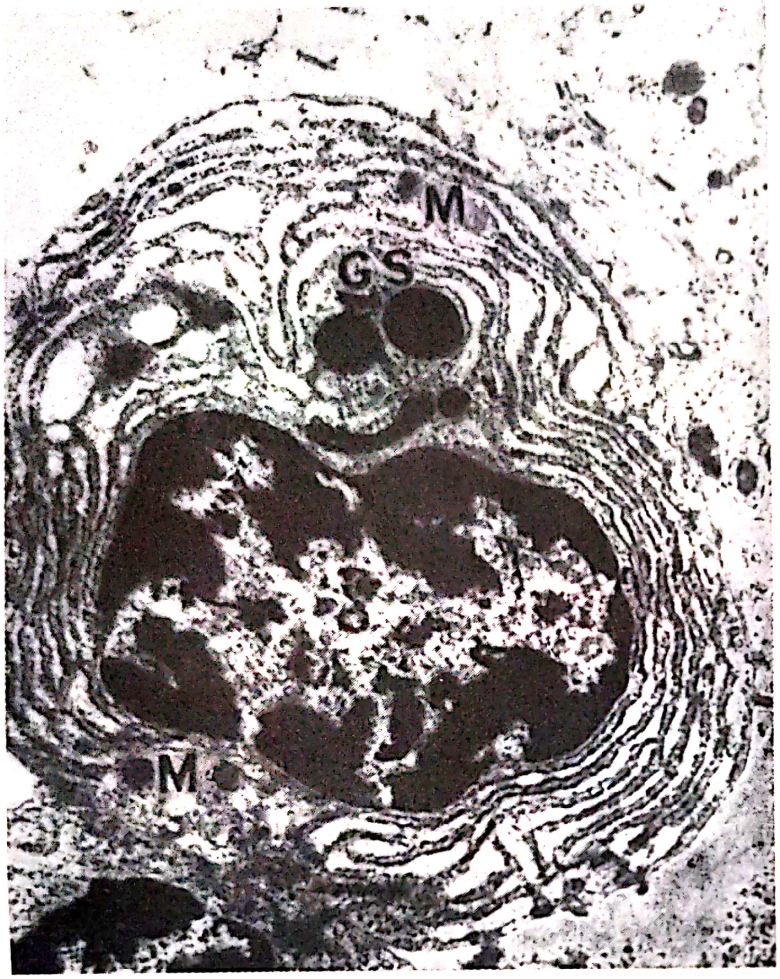


Fig. 7. — Plasmocit (imagine electronoptică).

În nucleu se remarcă zone dense de cromatină. Ergastoplasma, foarte dezvoltată, acoperă practic întreaga citoplasmă. *GS* — granule de secreție ; *M* — mitocondrie.

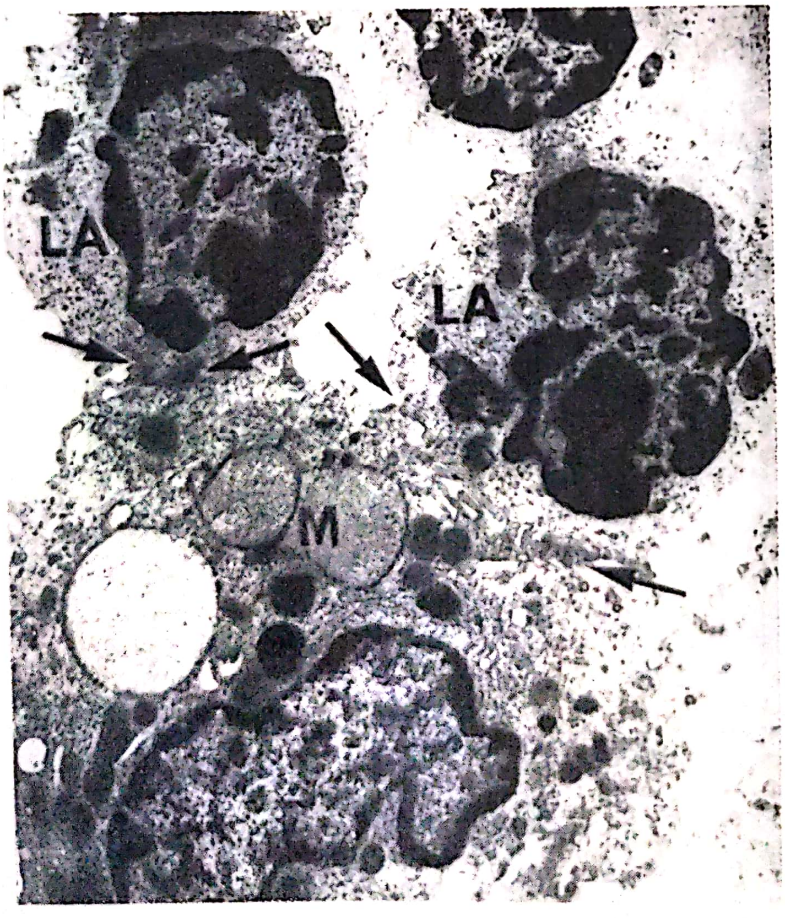


Fig. 8. — Insulă plasmocitară (imagine electronoptică). *M* — macrofag ; *LA* — limfocite activate. Săgețile indică intricarea voalurilor hialoplasmice la nivelul contactelor intercelulare (între macrofag și limfocite).

Scanned with OKEN Scanner

de Ig-anticorpi. Procesul de clasmatoză poate deveni total, de tip holocrin, cazuri în care întreaga celulă este lizată şi eliberează produsele de sinteză în totalitate. Asemenea fenomene se observă adesea în stările de hiperimunitate, ca răspuns la un stimul antigenic masiv, brutal.

Natura secreţiei plasmocitelor a fost identificată cu imunoglobulinele anticorpi graţie mai multor studii cu antigene speciale. Printre acestea, feritina (De Petris, 1966; Thiery, 1968), ca şi enzimele de tipul peroxidazei şi fosfatazelor (Leduc şi colab., 1968) au ocupat un loc particular. Asemenea antigene, fixate de plasmocite de la animale imunizate cu aceste antigene, permit vizualizarea localizării lor fie prin faptul că sînt impermeabile pentru razele electronooptice (cazul feritinei), fie prin reacţiile de culoare la care pot da naştere în prezenţa unor substrate adecvate (cazul enzimelor).

D. ROLUL CONTACTULUI INTERCELULAR ÎN PROCESELE IMUNITARE

Limfocitele, plasmocitele şi, în parte, macrofagele sînt considerate celulele libere, mobile, lipsite de raporturi strînse, fixe, cu alte celule. Dealtfel, aceste celule se pot dezvolta independent, ca suspensii, în culturi de celule *in vitro*. *In situ* însă, limfocitele, plasmocitele şi macrofagele participă la asociaţii de celule care sînt, funcţional, indispensabile dezvoltării proceselor imunitare.

Asemenea asociaţii de celule macrofag-limfoide, localizate în particular în organele şi ţesutul limfoid, pot prezenta structuri diferite şi anume :

1) *Insulele limfocitare* sînt formate dintr-o celulă centrală, dotată cu capacităţi fagocitare (macrofag mononuclear sau celulă dendritică ganglionară), înconjurată de mai multe limfocite. Asemenea formaţiuni pot fi frecvent evidenţiate în ganglionii limfatici, dar şi în alte formaţiuni limfoide. Structura şi funcţionalitatea acestor formaţiuni sînt mai uşor de urmărit în ganglionii limfatici locoregionali, după administrarea subcutanată a unui antigen solubil. La scurt timp după inoculare, antigenul poate fi evidenţiat în celulele fagocitare ale ganglionului, cu precădere în macrofage. În jurul acestora se observă aglomerări de limfocite mici, strîns lipite de celula macrofagică. La zona de contact dintre fagocite şi limfocite, ambele tipuri de celule prezintă formaţiuni caracteristice ale membranelor celulare : valurile hialoplasmice ale celulei centrale se insinuează printre microvilii de suprafaţă ai limfocitelor activate.

2) *Insulele plasmocitare* (fig. 8) sînt formate dintr-o celulă macrofagică centrală înconjurată atît de plasmocite în diferite stadii de maturare, cît şi de limfocite activate. Observarea în dinamică a detaliilor în formaţiunile insular-plasmocitare a dus la precizarea filiaţiei dintre insulele limfocitare şi cele plasmocitare (Robineaux şi colab., 1962). Aceste studii au permis să se realizeze o imagine despre diferitele secvenţe ce urmează pătrunderii antigenului în regiunea limfoidă respectivă : antigenul, preluat şi parţial degradat de către macrofag, este transferat (prin procese de contact intercelular) limfocitului, pe care-l stimulează ; transformarea blastică şi diviziunea serială a limfocitului activat este însoţită

Scanned with OKEN Scanner

de apariția unui mare număr de polisomi în citoplasmă, de constituirea formațiunilor ergastoplasmice și dezvoltarea aparatului Golgi, ceea ce — sub aspect morfologic — se traduce prin diferențierea plasmocitelor.

Insulele limfocito-plasmocitare constituie baza morfologică a fenomenelor de cooperare celulară, deosebit de importante în procesele imunologice. Contactele intercelulare realizate în cadrul acestor formațiuni asigură transferul, de la o celulă la alta, a produselor rezultate din diferite etape de prelucrare a antigenului.

Contactele intercelulare au fost demonstrate a fi indispensabile în primul rînd în mecanismele de instalare a imunității. Răspunsul imun primar *in vivo* necesită preluarea, prelucrarea și reținerea antigenului de către fagocitele ganglionului limfatic locoregional (Ada și colab., 1967). *In vitro*, răspunsul imun primar pare, de asemenea, să necesite participarea celulelor fagocitare (aderente la sticlă) (Mosier, 1967), spre deosebire de răspunsul imun secundar, în care nu întotdeauna este necesară participarea celulelor fagocitare (Boak și Mitchison, 1969 ; Moore și Schoenberg, 1968). Observațiile care susțin participarea macrofagului la instalarea imunității se bazează pe faptul că îndepărtarea fagocitelor (aderente la sticlă, vată, nylon) dintr-o suspensie de limfocite reduce capacitatea acesteia de a răspunde proliferativ la prezența aloantigenului (Oppenheim și colab., 1966 — 1968) și pe faptul că adăugarea de fagocite mononucleare la suspensii limfocitare purificate (tabelul nr. 2) crește semnificativ răs-

Tabelul nr. 2

Importanța prezenței mononuclearelor macrofage pentru inducerea transformării blastice în culturi de limfocite provenite de la subiecți diferiți

Transformarea blastică		Originea celulelor cultivate				
		Donator A		Donator B		
Nr. rezultate pozitive din totalul testărilor	% rezultate pozitive	limfocite	macrofage	limfocite	macrofage	antigen
90/104	89	+	−	−	+	−
6/58	2,8	+	−	+	−	−
31/34	91,2	+	+	−	−	+

punsul celular imun (Seeger, și Oppenheim, 1971). Atît macrofagele imune, cît și cele neimune s-au dovedit a fi la fel de eficiente în provocarea răspunsului proliferativ al limfocitelor sensibilizate, ceea ce pledează pentru nespecificitatea imunologică a participării macrofagului la răspunsul imun. De asemenea, s-a constatat că preincubarea cu antigen a macrofagelor le permite să inducă proliferarea limfocitelor sensibilizate, chiar dacă antigenul este absent din cultură ; aceasta sugerează că interacțiunea macrofag-antigen este anterioară interacțiunilor macrofag-limfocit și limfocit-antigen. Pretratarea cu antigen a macrofagelor necesită un contact minim de o oră, ceea ce denotă că fagocitul „prelucrează" antigenul înainte de a-l supune limfocitului. Se pare că „prelucrarea" constă din o digestie limitată (a părții „self") a moleculei de antigen și cuplarea cu RNA a reziduului molecular ce deține informația antigenică. Prelucrarea metabolică a antigenului este confirmată de posibilitatea de

Scanned with OKEN Scanner

a opri utilizarea sa de către fagocite prin punerea acestora în contact cu inhibitori metabolici (NaF, iodoacetamidă, N-etil-maleilimidă, bentonită, torotrast, metil-palmitat, hidrocortizon, actinomicină; cianur şi dinitrofenolul n-au efect inhibitor) (Hersh, 1971; Păunescu 1971).

O serie de cercetători (Bain, 1971; Albarracin, 1971 etc.), utilizînd culturi de amestecuri de limfocite alogene în prealabil cît mai bine purificate pentru eliminarea macrofagelor, au prezentat observaţii care sugerează că proliferarea limfocitară în aceste culturi poate avea loc în absenţa macrofagelor, la fel ca în cazul culturilor de limfocite PHA-stimulate. Criticile care se aduc unor astfel de experimente se referă în principal la 3 aspecte: *a*) din cauza limitărilor actuale de ordin tehnic este practic imposibil ca o suspensie de limfocite să fie *total* debarasată de macrofage (adăugarea de numai 0,6% macrofage la o cultură stimulează semnificativ răspunsul proliferativ); *b*) tratarea cu ser anti-macrofagic a suspensiei de limfocite inhibă răspunsul proliferativ; *c*) în culturi de limfocite a putut fi demonstrată transformarea limfocit-macrofag, ceea ce presupune că prezenţa macrofagelor nu poate fi complet evitată nici dacă se porneşte de la o cultură iniţial total lipsită de macrofage.

Prelucrarea antigenului de către macrofage duce la creşterea importantă a imunogenităţii antigenului (Askonas şi Rhodes, 1965). Unele cercetări recente (Feldman şi Basten, 1971; Greaves, 1972; Nossal, 1972) constată că talia şi densitatea determinanţilor antigenici, şi deci valenţa lor, au o mare importanţă pentru fixarea moleculei de antigen pe structurile Ig de suprafaţă ale limfocitelor şi pentru declanşarea răspunsului imun. Aceste observaţii sugerează că rolul macrofagului constă în facilitarea fixării antigenului pe limfocite: ca urmare a degradării parţiale a moleculei de antigen, talia acesteia, ca şi densitatea (valenţa) determinanţilor, devin convenabile.

Celulele fagocitare specializate au fost evidenţiate şi implicate, pe baza unor mecanisme similare cu cel descris, şi în cazul colaborării T—B, la nivelul centrilor germinativi din corticala ganglionilor limfatici (Nossal, 1972). Antigenul este luat de către celulele dendritice fagocitare din aceşti „foliculi limfoizi primari" şi este oferit, după prelucrare, celulelor B. Studiile de detaliu, efectuate în paralel la şoareci normali şi la şoareci congenitali atimici, susţin conceptul după care — la nivelul centrilor germinativi — colaborarea T—B are loc prin intermediul celulelor fagocitare, interacţiunea celulară devenind un triplet: celulă T — celulă dendritică — celulă B (celula dendritică preia de la celula T matricea antigenului, generatoare de Ig-anticorpi, şi o prezintă celulelor B de la periferia centrului germinativ) (Gutman şi Weissman, 1971).

Activitatea de asistenţă (de colaborare sau „helper") a limfocitelor T şi B este un exemplu pregnant pentru rolul interacţiunilor celulare atît în producerea de anticorpi circulanţi, cît şi în imunitatea mediată de celule. Conceptul de activitate „helper" a rezultat din cercetările care au demonstrat timo-dependenţa proceselor de producere a anticorpilor circulanţi. Aceste cercetări au arătat că îndepărtarea timusului (deci eliminarea limfocitelor T) nu mai permite activarea prin antigen a celulelor B (extratimice) şi transformarea lor în plasmocite, celulele producătoare de anticorpi (Mitchison, 1971). Cu alte cuvinte, antigenul nu poate sti-

Scanned with OKEN Scanner

mula direct celulele B pentru a declanşa transformarea lor în celule efectoare (plasmocite), ci activarea celulelor B are loc numai în prezenţa şi cu colaborarea celulelor T.

Mecanismul procesului de asistenţă are la bază contactul intercelular. După Mitchison, celulele T fixează antigenul cu partea sa „purtătoare" (cap. 3), lăsînd liberă partea haptenică, care este prezentată, prin contact intercelular, limfocitelor B. Acesta ar fi unul din mecanismele posibile ale activităţii „helper" a celulelor T şi ipoteza este sprijinită — printre altele — de specificitatea particulară a celulelor T pentru „purtător", spre deosebire de sensibilitatea accentuată a celulelor B pentru haptenă.

În cazul imunităţii mediată prin anticorpi, celulele precursoare ale efectorilor sînt limfocite B, iar cele ajutătoare sînt T.

În imunitatea mediată prin celule, ambele categorii de celule — atît cele efectoare, cît şi cele ajutătoare — sînt de tip T. Prin studii experimentale de răspuns „grefă contra gazdă" (GvH), utilizîndu-se modele experimentale cu timectomie la şoareci adulţi şi tratamente diferenţiate cu ALS şi anti-θ, s-a putut demonstra existenţa a două subpopulaţii — T_1 şi T_2 — de limfocite timice (Cantor, 1972). Dintre aceste subpopulaţii, celulele T_1 sînt mai intens timus-dependente (scad rapid numeric după ablaţia timusului) şi sînt mai concentrate în timus şi splină (celulele T_2 fiind mai frecvente în ganglionii limfatici, în ductul toracic şi sînge). Celulele T_1 sînt mai sensibile la serul anti-θ, iar celulele T_2 mai sensibile la ALS. Timus-dependenţa accentuată a celulelor T_1 mai este concretizată şi printr-un timp de regenerare mai rapid (au „viaţă scurtă"), ca şi prin dependenţa lor de un factor umoral timic, cu rol inhibitor asupra acţiunii anti-T_1 a hormonilor corticosteroizi. Celulele T_2, în schimb, cu toate că provin dintr-o aceeaşi linie celulară cu celulele T_1, sînt recirculante, au o viaţă mai lungă şi astfel sînt localizate dominant extratimic. Maturarea celulelor T_2 se face pe seama celulelor T_1, în contact cu antigenul, pe care-l pot fixa la membrana de suprafaţă prin procese ca cele descrise anterior (fig. 4). Altfel spus, celulele T_1 recunosc antigenul şi, ca reacţie specifică, induc maturarea de *celule T_2*, acestea *fiind* celulele *efectoare propriuzise în răspunsul imun mediat celular*. În aceste procese, celulele T_1 deţin rolul de „helper", iar celulele T_2 pe acela de celulă efectoare. Celula T_1 deţine, implicit, şi capacitatea de a memoriza informaţia antigenică ; aceste celule T_1 sînt cele capabile să transfere imunitatea antigrefă la receptori normali. În schimb, *celula T_2* este cea capabilă *să exercite efect citotoxic asupra celulelor-ţintă* (eritrocite, limfocite alogene etc.), fenomen care are loc de asemenea prin contact intercelular.

În ceea ce priveşte *celulele-ţintă* şi mecanismul efectului citotoxic limfocitar, au existat — şi probabil vor surveni şi în viitor — numeroase discuţii. Două sînt concepţiile principale care se confruntă : prima consideră că mecanismul efector în efectul citotoxic este strict un fenomen de contact ; a doua porneşte de la studiile care au constatat că limfocitele stimulate cu antigene, cu extracte de stafilococ sau cu PHA eliberează o serie de molecule efectoare, termolabile, nedializabile, fără structură

Scanned with OKEN Scanner

Ig, care pot deteriora o gamă variată de celule-ţintă * cultivate (limfocite, macrofage, fibroblaşti, epitelioide etc.). Argumentele care susţin mecanismul de contact celular se bazează pe diferenţele care există între modul de acţiune citotoxică imunologic specifică a limfocitului sensibilizat şi acţiunea neselectivă (nespecifică imunologic) a efectorului citotoxic eliberat de limfocitele PHA-stimulate.

Pentru contactul intercelular direct ca mecanism al *efectului citotoxic limfocitar* pledează o serie de experienţe de tipul celei întreprinse de Brunner şi Switzerland. Aceşti cercetători au făcut două serii de culturi de limfocite : ambele serii conţineau acelaşi amestec de limfocite provenite de la şoareci diferiţi — limfocite cu antigen A şi limfocite cu antigen B ; dar, în timp ce în prima serie erau marcate cu ^{51}Cr numai limfocitele A, în a doua serie erau marcate numai limfocitele B. În final, toate culturile au primit limfocite efectoare anti-A, prelevate de la un şoarece imunizat cu antigenul A. În acest experiment, dacă celulele efectoare (anti-A) ar pune în libertate un mediator molecular citotoxic nespecific, atunci ar fi trebuit ca ambele tipuri de limfocite (A şi B) să fie vătămate şi, deci, să aibă loc eliberare de ^{51}Cr în fiecare din cele două serii de culturi. Dar, eliberarea de ^{51}Cr avea loc numai în culturile A, de unde rezultă că celulele efectoare anti-A puteau altera numai limfocitele purtătoare de antigen A.

Rezultatele acestor experienţe susţin deci mecanismul de contact intercelular ca bază a proceselor citotoxice, precum şi specificitatea imunologică a acestor procese. Importanţa mecanismului de contact intercelular în procesele specific imunologice este puternic sugerat şi de formaţiunile „în rozetă", evidenţiabile în asemenea culturi, care sînt realizate de aglomerări de celule efectoare în jurul unei celule-ţintă (sau invers).

Experienţele de tipul celei descrise nu exclud posibilitatea intervenţiei unui efector molecular ; ele pledează însă pentru a admite că efectorul molecular este eliberat ca urmare a contactului dintre celula efectoare şi antigen (solubil, particulat, celulă-ţintă etc.). Este dealtfel demonstrat încă din 1956, de către Lawrance şi Pappenheimer, că supernatantele limfocitelor sensibilizate, puse în contact cu antigenul corespunzător, sînt capabile să deterioreze orice celulă care conţine antigenul specific.

O celulă efectoare poate elibera mediatori chimici ca urmare a stimulului provocat nu numai de contactul cu antigenul specific, ci şi prin contactul cu alţi agenţi mutageni, nespecifici, cum este PHA. Aceste observaţii obligă să considerăm că stimulul metabolic provocat de agentul transformant specific imunologic (antigen) sau nespecific (PHA, unele virusuri etc.) este indispensabil pentru eliberarea mediatorului molecular.

Unele experienţe au evidenţiat că mediatorii moleculari eliberaţi în mediu de celule efectoare stimulate cu PHA pot acţiona nediferenţiat

* Termenul de „celulă-ţintă" este uneori greşit folosit, spre exemplu pentru variate tipuri de celule „îmbrăcate" în prealabil cu un anumit tip de anticorp ; în acest caz, efectul citotoxic este realizat fie direct de antigenul corespunzător, fie de către unele structuri Ig-limfocitare, în prezenţa macrofagelor şi a complementului ; or, mediatorul citotoxic izolat din limfocite nu are structură de tip Ig, iar celulele efectoare nu necesită prezenţa complementului (ceva mai mult : fracţiunea C'8 are acţiune inhibitoare asupra efectului citotoxic) ; deci experienţele cu celulele-ţintă „îmbrăcate" cu un alt substrat aparţin unui alt tip de fenomene.

asupra unor celule lipsite de antigenul specific. La o revizuire mai atentă, asemenea experimente nu apar convingătoare. Spre exemplu, în mai multe cercetări s-a studiat acţiunea supernatantelor cu mediatori moleculari asupra unor culturi de celule în monostrat, apreciindu-se acţiunea mediatorilor după numărul de celule desprinse de pe sticlă; or, cum supernatantele conţin şi hidrolaze lizosomale, care au capacitatea de a disloca celulele aderente, nu este posibil să se considere demonstrativ pentru mediatorii celulari faptul că asemenea supernatante eliberează celulele aderente la sticlă.

În acelaşi sens, leziunile tisulare obţinute cu supernatante de culturi limfocitare stimulate cu PHA nu pot fi puse pe seama unor mediatori moleculari citotoxici nespecifici, deoarece aceste supernatante conţin şi resturi de PHA liberă, care, prin inoculare, poate provoca singură leziunile tisulare observate.

Mediatorii moleculari (farmacodinamici). Reacţiile imunitare, realizate *in situ* între antigen şi anticorp sau între antigen şi limfocitul sensibilizat duc la dezvoltarea unor alterări tisulare locale (permeabilizare vasculară, edem, aglomerări de celule, extravasarea eritrocitelor etc.), care permit evidenţierea răspunsului imun *in vivo* şi, totodată, constituie reacţii caracteristice pentru diferitele tipuri de sensibilizare imună (cap. 7). Cercetările întreprinse pentru a elucida mecanismele de inducere a acestor reacţii au arătat că alterările tisulare produse sînt secundare eliberării unor „mediatori moleculari" ca urmare a reacţiei dintre antigen şi anticorpul specific sau celula sensibilizată efectoare. Asemenea substanţe ce mediază manifestările tisulare ale răspunsului imun au fost iniţial descrise în cazul reacţiilor de hipersensibilitate imediată (cap. 7); cercetările din ultimele două decade, aprofundînd cu predilecţie procesele imunitare de tip întîrziat, au dus la evidenţierea de mediatori moleculari şi în cazul acestor procese (Lawrance şi Pappenheimer, 1956 — 1967).

În reacţiile de hipersensibilitate imediată — de tip şoc anafilactic sau fenomen Arthus — complexul antigen-anticorp constituie factorul declanşator al reacţiilor ce caracterizează răspunsul imun şi este singura etapă din lanţul de procese care e dotată cu specificitate imunologică; restul proceselor — celulare sau/ şi umorale — nu prezintă vreo sensibilitate particulară la antigen, ele manifestîndu-se independent de prezenţa acestuia.

În şocul anafilactic, anticorpii sînt de tip gamma-1 * nefixatori de complement, migrînd electroforetic rapid şi fiind fixaţi pe celule (mastocite) prin intermediul segmentului H din fragmentul Fc papainic (cap. 4). Aceşti anticorpi pot reacţiona direct cu antigenul specific, proces care deteriorează mastocitele pe care s-au fixat, acestea eliberînd *substanţele de tip histaminic* ce le conţin (histamină, heparină, serotonină, bradikinină, „slow-reacting substance-allergy" etc.). Substanţele histaminice deţin în acest caz rol de mediatori moleculari: ele acţionează, chiar în absenţa antigenului, pe musculatura netedă, pe care o contractă; numai la nivelul vaselor mici aceste substanţe dau o reacţie inversă, de relaxare şi permeabilizare. Efectul rezultat este o reţinere masivă a masei sanguine la periferie şi, astfel, o diminuare importantă a întoarcerii sîngelui venos în auriculul drept, ceea ce declanşează un colaps cardiac.

* IgG cu migrare electroforetică rapidă.

Scanned with OKEN Scanner

În fenomenele Arthus, anticorpii efectori sînt de tip gamma-2, migrînd electroforetic lent, nefixîndu-se pe celule, dar precipitînd în prezenţa antigenului şi a complementului. Complexul antigen-anticorp-complement, odată precipitat, se depune pe pereţii vaselor mici, alterînd în primul rînd celulele endoteliului. Ia astfel naştere un edem al pereţilor vaselor mici, cu blocarea migrării plachetelor, ceea ce — independent de prezenţa antigenului — duce la formarea de coaguli intravasculari. Coagularea este urmată imediat de extravasarea polinuclearelor, care realizează, în ţesutul înconjurător, edem indurat, secundat de hemoragie şi, în final, de necroză locală.

În reacţiile de hipersensibilitate tardivă, cînd celula limfoidă sensibilizată vine în contact cu antigenul, eliberează o serie de mediatori moleculari (farmacologici), dintre care unii apar dotaţi cu specificitate imunologică, deoarece induc reacţii selective numai în prezenţa antigenului sensibilizant (Păunescu, 1972). Datele asupra existenţei şi rolului mediatorilor moleculari în procesele de hipersensibilitate celulară au fost obţinute prin experienţe în care fie că se aşeza între celulele alogene ce urmau a fi puse în contact o membrană artificială care permitea „contactul" numai prin mediatori, fie că, la declanşarea răspunsului imun, în locul limfocitelor se folosea supernatantul (sau filtratul) culturilor de limfocite. Spre exemplu :

Feldman şi Basten (1972) pun în contact 2 culturi de celule T şi B prin intermediul unei membrane cu pori de 1μ, care nu lasă să treacă celulele, dar permite schimbul de molecule. În aceste condiţii cercetătorii constată că acţiunea „helper" are totuşi loc (dacă există şi macrofage prezente) şi conchid că activitatea de cooperare este mediată molecular.

Doria şi colab. (1972) pun în contact celule B (din spline de şoarece imunizat cu hematii de oaie şi apoi timectomizat) cu supernatantul unor culturi de celule timice şi constată că acest supernatant poate activa acţiunea hemolitică a celulelor B efectoare asupra celulelor-ţintă (hematii de oaie). Cercetătorii conchid că, şi în acest caz, activitatea „helper" a fost realizată de un mediator celular („promoting factor").

Au fost descrişi, pînă în prezent, un număr relativ important de mediatori moleculari, cu rol efector, produşi de diferite suspensii limfocitare. Astfel :

1) *Factorul de transfer* (Lawrence şi Pappenheimer, 1956—1957) este un mediator care iniţiază specific imunitatea celulară (spre deosebire de alţi factori, ca limfotoxina şi MIF, care acţionează ca efectori ; este deci în bună măsură similar cu „promoting factor" de origine timică).

Factorul de transfer provoacă *in vitro* şi *in vivo* transformarea limfocitelor normale în limfocite „sensibilizate", efectoare, care—în contact cu antigenul specific — suferă transformare blastică şi proliferare, producînd şi MIF. Factorul de transfer este dializabil, neimunogen, fără structură Ig (G. M. sub 10 000) ; este eliberat de limfocitele imune după un contact de o oră cu antigenul.

2) *Factorul de activare a limfocitelor* (sau factorul mitogen) a fost descris de Valentine şi Lawrence (1968). Are acţiune superpozabilă cu cea

a factorului de transfer, dar se obține din limfocitele imune după 24 de ore de incubare cu antigenul; este termolabil (inactivat la 56°C) și nedializabil. De asemenea, factorul de activare a limfocitelor nu este sedimentabil la 100 000 × g, ceea ce îl diferențiază de antigenele de histocompatibilitate.

3) *MIF, factorul de inhibiție a migrării leucocitelor* (Bloom și Bennett, 1966; David, 1966) este eliberat de limfocitele imune puse 24 de ore în contact cu antigenul specific. Este termostabil, nedializabil și provoacă sensibilizarea macrofagelor normale în sensul că migrarea lor este inhibată în prezența antigenului.

4) *Limfotoxina* (*factorul citotoxic*) este eliberată de limfocitele imune după 36 de ore de contact cu antigenul (Granger și colab. 1968; Leibowitz și Lawrence, 1969); are rol efector, de distrugere a celulelor-țintă. Este termolabilă, nedializabilă și nu are structură imunoglobulinică.

Printre alți mediatori moleculari descriși ca fiind eliberați de limfocitele imune se mai pot aminti: factorul leucocitar (Ward și colab., 1969), un factor cu activitate de tip interferon, un polinucleotid termostabil cu activitate adjuvantă etc.

Activitatea *in situ* a mediatorilor moleculari ai reacțiilor imunitare celulare a fost urmărită în cazul *intradermoreacției la tuberculină*. S-a observat că, la locul de pătrundere a antigenului, apar imediat un infiltrat cu polinucleare și o serie de mononucleare circulante, dintre care numeroase monocite și un mic număr de limfocite sensibilizate. În contact cu antigenul specific, aceste limfocite eliberează un factor leucocitotactic (Ward și colab.; 1969), care stimulează acumularea — într-o fază ulterioară — a unui mare număr de celule mononucleare nesensibilizate. Acestea sînt blocate și aglomerate local de prezența antigenului, prin intermediul MIF, ceea ce are ca rezultat oprirea circulației sanguine, edem și, într-o fază finală, necroză. Concomitent, macrofagele sensibilizate sosite la locul de reacție, dacă ajung în contact cu antigenul, suferă o bruscă activare a enzimelor lizosomale, care sînt „vărsate" extracelular și, prin activitatea lor, accentuează procesul de distrucție tisulară.

Dacă antigenul declanșator al reacției este celula (cazul imunității de transplant), atunci are loc o alterare a structurii acesteia prin așa-numita „limfotoxină", produs al imunității citotoxice specifice pe care limfocitul sensibilizat o manifestă față de celula-țintă.

În sfîrșit, în special atunci cînd mici cantități de antigen ajung, prin circulația generală, la nivelul unor organe limfoide, se induce o mitoză importantă a celulelor mononucleare locale. În asemenea cazuri, antigenul este inițial „prelucrat" de mononuclearele fagocitare, apoi — ca urmare a contactului cu limfocitele sensibilizate — acestea suferă transformarea blastică și mitoză; concomitent, ele eliberează „factorul mitotic" care, în prezența antigenului specific, provoacă și multiplicarea macrofagelor (Nelson, 1968; Benestad și colab., 1971). Acest mecanism constituie, în final, o sursă de reîmprospătare și îmbogățire a organismului cu celule sensibilizate efectoare.

Scanned with OKEN Scanner

E. IMUNOSUPRESIA ŞI MECANISMELE DE ACŢIUNE ALE SUBSTANŢELOR IMUNOSUPRESIVE

Dezvoltarea capacităţii de răspuns imun are loc cu participarea mai multor tipuri de celule, înlănţuite într-o serie de procese de activare, transformare şi mitoză (fig. 9). Teoretic, blocarea oricăruia dintre aceste

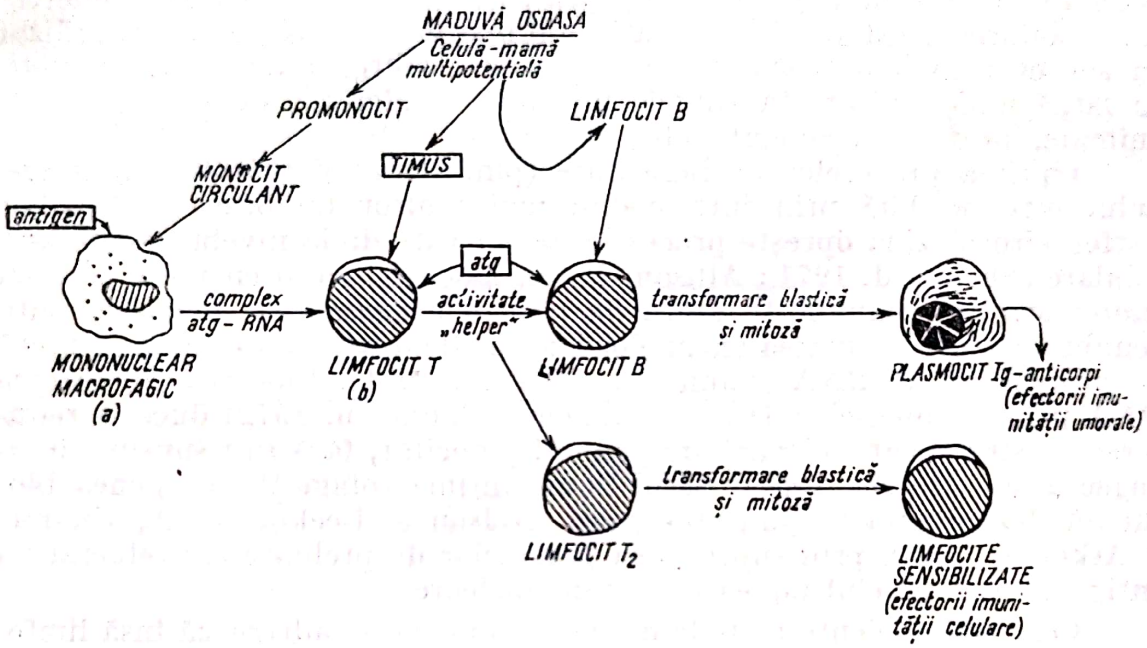


Fig. 9. — Etapele celulare ale răspunsului imun.

a — degradarea parţială a antigenului (*atg*) şi cuplarea determinanţilor antigenici cu RNA-macrofagic; *b* — transcripţie inversă (RNA — DNA); înglobarea informaţiei antigenice în „memoria" limfocitului. Procesele de stimulare, transformare şi mitoză includ activarea mecanismelor de endocitoză, precum şi sinteze seriale de DNA, RNA şi proteine.

procese va duce în final la suprimarea capacităţii de răspuns imun; în practică, însă, realizarea imunosupresiei se dovedeşte ceva mai complexă, motiv pentru care în terapia imunosupresivă se utilizează mai ades termenul de „imunodepresie" în loc de „imunosupresie" (Păun şi colab., 1972).

Prima verigă a lanţului de procese ce conduc la realizarea capacităţii de răspuns imun o constituie antigenul; distrugerea sau blocarea acestuia duce desigur la sistarea iniţierii întregii serii de procese imunizante. Încercarea de a distruge *in situ* antigenul a fost făcută numai în cazuri speciale (spre exemplu: hidroliza penicilinei prin penicilinază) şi nu a condus la rezultate cu aplicativitate clinică.

Blocarea antigenului s-ar putea realiza prin anticorpi specifici faţă de antigenul respectiv. Contrar acestui raţionament, se constată însă experimental că administrarea antigenului simultan cu transferul pasiv de anticorpi specifici nu duce la anularea răspunsului, ci, dimpotrivă, la o intensificare a acestuia deoarece partea anticorpică din complexul antigen — anticorp format deţine un rol de adjuvant (Nossal, 1972).

Scanned with OKEN Scanner

In vitro s-a constatat că incubarea celulelor limfoide cu anticorpi nu împiedică potențialul lor de a dezvolta răspuns imun; în schimb, incubarea macrofagelor cu astfel de anticorpi neutralizează capacitatea antigenului de a activa macrofagul și realizează suprimarea răspunsului imun (Pierce, 1965). Rezultate experimentale mult mai bune s-au obținut cu antigene degradate, în care fiecare fragment molecular rămîne monovalent; administrarea de antigene monovalente duce la suprimarea răspunsului imun datorită faptului că acestea pot bloca imunoglobulinele receptoare de la suprafața limfocitului, fără să declanșeze formarea „bonetei" și endocitarea acesteia (fig. 4). Antigenul mai poate fi de asemenea utilizat cu succes pentru desensibilizare, o metodă indirectă de imunodepresie, cu largă aplicativitate în clinică, mai ales în alergiile de polen, păr de animale, praf, medicamente etc.

Oprirea proceselor de fagocitare (pinocitare) și hidroliză a antigenului este posibilă prin intermediul mai multor inhibitori metabolici. Astfel, citocalazina oprește procesele de activare de la nivelul membranei celulare (Sheppard, 1971; Allison, 1972), blocînd fondul energetic necesar endocitării antigenului. În afară de procesele energetice, hidroliza antigenului necesită activarea enzimelor lizosomale, ceea ce presupune sinteză de proteină și de RNA (Păunescu și colab., 1971). Blocarea sintezei de RNA prin actinomicină D sau rifamicine (Păunescu, 1972) duce la reducerea masivă a catabolizării antigenului pinocitat, fără să-i suprime imunogenitatea (Harris, 1967). Serul imun antimacrofage de asemenea blochează dezvoltarea răspunsului imun (Nelson și Becker, 1959; Unanue și Askonas, 1968), prin suprimarea proceselor de preluare și prelucrare a antigenului la nivelul fagocitelor mononucleare.

Cele mai eficiente metode de imunosupresie se adresează însă limfocitului, celula imunocompetentă propriu-zisă. După cum s-a constatat (cap. 5), pentru inducerea răspunsului imun este necesară existența unei relații cantitative între numărul de celule limfoide funcționale și doza de antigen administrată. O reducere a numărului de limfocite sau o blocare a reactivității lor provoacă suprimarea răspunsului imun; după cum o creștere importantă a cantității de antigen administrată realizează inducerea memoriei imunologice „negative" și toleranța imunitară față de antigenul respectiv.

Metoda cea mai bună de eliminare a celulelor limfoide s-a dovedit pe cale experimentală a fi iradierea generală a organismului cu raze X în doze subletale (400—650 r). Ca urmare a distrugerii elementelor limfoide pe această cale, organismul iradiat manifestă o lipsă de răspuns imun comparabilă cu cea din faza embrionară (în care cantitatea de limfocite reactive este de asemenea foarte redusă) (Dixon și Maurer, 1955; Linscott și Weigle, 1965).

În mod asemănător, drenarea prelungită a canalului toracic (Mc Gregor și Gowans, 1963), și timectomia neonatală (Miller, 1963), care provoacă o limfopenie masivă, asigură o lipsă similară de răspuns imun.

Administrarea repetată de ser antilimfocitar duce la instalarea limfopeniei (Waksman și colab., 1961). Serul antilimfocitar, prin anticorpii anti-IgG, se fixează pe suprafața limfocitelor, blocînd receptorii imunoglobulinici; complexele antiser-limfocit sînt preluate de SRH, degradate și eliminate (Lance, 1969), ceea ce se traduce prin limfopenie periferică.

Scanned with OKEN Scanner

Corticoizii, administraţi în doze corespunzătoare, determină o scădere pronunţată a limfocitelor din ţesutul limfoid (Dougherty şi colab., 1964), reduc migrarea leucocitelor la locul de stimulare antigenică (Germuth, 1956; Fruham, 1964), opresc transformarea macrofagică a mononuclearelor (North, 1971) şi, în final, suprimă răspunsul imun mediat prin anticorpi (Elliott şi Sinclair, 1968) sau prin celule (Gabrielsen şi Good, 1966).

Răspunsul imun poate fi suprimat prin agenţi citostatici sau antibiotice care blochează capacitatea de proliferare şi diferenţiere a celulelor imunocompetente (fig. 9). Printre aceste substanţe trebuie amintite antimetaboliţii şi substanţele antimitotice.

Antimetaboliţii, graţie structurii lor chimice analogă metaboliţilor care participă la sinteza acizilor nucleici (tabelul nr. 3), competiţionează

Tabelul nr. 3

Relaţiile de competiţie ale antimetaboliţilor

Antimetabolitul	Metabolitul competiţionat	Antimetabolitul	Metabolitul competiţionat
Antipurine	*Purine*	*Antipirimidine*	*Pirimidine*
6-mercaptopurină	adenină	5-fluoro-uracil	uracil
6-tioguanină	guanină		
Azaguanină	guanină	5-fluoro-timină	timină
Azatioprină (imuranul)	purinele		

cu constituenţii normali şi duc la formarea de compuşi (acizi nucleici) inactivi biologic; prin acest mecanism, antimetaboliţii produc blocarea dezvoltării şi multiplicării normale a celulei, ceea ce, în cazul proceselor de răspuns imun, se traduce prin imunosupresie ca rezultat al blocării diferenţierii şi proliferării celulelor imunocompetente stimulate de antigen.

Printre antimetaboliţii citostatici sînt incluse şi „antifolicele", de tipul *metotrexatului* (sau *ametopterina*). În metabolismul intermediar, acidul folic (sau acidul pteroilglutamic) împreună cu ciancobalamina (vitamina B_{12}) intervin în procesele de transmetilare care asigură conversiunea uracilului în timină, a glicinei în serină, a histidinei în glutamină etc. Datorită analogiei structurale dintre metotrexat şi acidul folic devine posibilă o acţiune competitivă între cele două substanţe; or, cum metotrexatul nu poate funcţiona ca o coenzimă în locul acidului folic, rezultă blocarea proceselor de transmetilare şi, implicit, oprirea sintezei de compuşi care conţin timină, serină ori glutamină.

Antimitoticele sînt substanţe de origine diferită (citostatice de sinteză, antibiotice, derivaţi semisintetici), care au proprietatea comună de a bloca multiplicarea celulară prin interferenţa cu anumite căi metabolice esenţiale: sinteza DNA (actinomicina D, ciclofosfamida), sinteza RNA (rifamicinele şi derivaţii lor), sinteza proteinelor (puromicina, cloramfenicolul).

Dintre toţi imunodepresorii chimici cunoscuţi în prezent, numai un mic număr sînt introduşi în clinica umană, din cauza efectelor secun-

Scanned with OKEN Scanner

dare nocive pe care le exercită. Astfel, alături de corticoizi, sînt folosite preventiv (administrare înaintea sensibilizării) 6-mercaptopurina, metotrexatul și imuranul, în timp ce substanțele alkilante (de tipul ciclofosfamidei) au o utilizare „curativă", după instalarea sensibilizării, ele nefiind active dacă sînt administrate înaintea stimulării antigenice.

Un caz particular îl constituie derivații de rifamicină, un antibiotic obținut din culturi de *Streptomyces mediteranei*. Acești derivați, printre care și produsul de semisinteză rifampicina (Maggi, 1966), exercită un efect antimitotic net (Păunescu, 1970—1974) și s-au dovedit capabili să inhibe transferul informației între acizii nucleici în ambele sensuri (Păunescu, 1972), transfer implicat nemijlocit în fenomenele imunitare. Astfel, transferul informației de la RNA la DNA (proces mediat de transcriptaza inversă, o polimerază a DNA dependentă de o matrice RNA) constituie o etapă esențială în realizarea „memoriei" imunologice la nivelul genomului celulei imunocompetente (cap. 5). Ulterior, în celula imunocompetentă dotată cu memorie imunologică, transferul informației se face de la DNA la RNA-mesager (proces mediat de transcriptaza directă, o polimerază a RNA dependentă de o matrice de DNA monocatenar); prin acest RNA nou-format, informația prelucrată ajunge la nivelul ribosomilor, unde este tradusă în proteinele nou sintetizate, care astfel vor dobîndi proprietățile unor imunoglobuline-anticorpi.

Capacitatea derivaților de rifamicină de a bloca procesele de transcripție celulară, precum și potențialul lor antimitotic limfocitar, constituie premize sigure pentru a lua în considerație posibilitatea utilizării lor ca agenți imunosupresivi (Păunescu, 1970—1974). Experimental, s-a putut demonstra, la iepuri și cobai, efectele imunosupresive ale rifampicinei asupra răspunsului imun primar de tip anticorpic și celular (Păunescu, 1970; Valenti, 1971; Moshkowitz, 1971, Freidlin și colab., 1972), precum și asupra fenomenului de eliminare a grefelor (Păunescu, 1972; Serrou, 1972). Efectul antimitotic limfocitar al rifampicinei (Păunescu, 1970—1974; Nilsson, 1972; Dajani, 1972, Grassi și Pozzi, 1972; Pogo, 1972; Benezra, 1972), precum și inhibarea sistemelor enzimatice celulare de transcripție (Gallo, 1971; Scolnick, 1971; Ting, 1972), constituie efectele imediate ale mecanismului de acțiune imunosupresivă a derivaților hidrazonici de rifamicină. Introducerea în clinica umană a acestor agenți imunosupresivi este încă limitată de necesitatea unor doze mari, administrate timp îndelungat, ceea ce organismul uman tolerează cu greutate. Se cercetează în prezent calea de obținere a unui derivat imunosupresiv care să fie la fel de activ dar în doze mult mai reduse (Păunescu și colab., 1973).

Imunosupresia este dependentă nu numai de capacitatea substanței administrată de a exercita un efect antimitotic la nivelul celulelor imunocompetente, dar și de condițiile în care antigenul își exercită potențialul stimulant asupra acestor celule. Efectul stimulant este direct proporțional cu valoarea raportului „cantitatea de antigen/numărul celulelor imunocompetente", și, după cum a rezultat din studiile asupra condițiilor de inducere a toleranței imune (cap. 5), o valoare înaltă a raportului poate realiza imunosupresie prin blocarea răspunsului imun ca urmare a suprasolicitării antigenice a limfocitelor (Nossal, 1972). O valoare înaltă a raportului „antigen/limfocite" se poate obține fie prin administrarea unei

Scanned with OKEN Scanner

mari cantităţi de antigen, fie prin reducerea numărului de limfocite. Imunodepresorii chimici — antimitoticele sau antimetaboliţii — exercită un efect similar : prin limfopenia produsă, aceste substanţe pot facilita inducerea toleranţei (cap. 5). Se realizează astfel o punte de legătură între fenomenele de imunosupresie şi cele de toleranţă imunitară.

BIBLIOGRAFIE

ADA G. L., PARISH C. R., NOSSAL G. J. V., ABBOT A., Cold Spring Harbor Symp., 1967, *32*, 381.

ALBARRACIN N., BAIN B., MCDONALD J., în *Leucocyte culture Conference*, sub red. MCINTYRE O. R., Appleton Publ., New York, 1971, p. 165.

ALLISON A. C., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 156.

AMOS B., în *Progress in Immunology*, Academic Press, New York, 1971, p. 139.

ASCHOFF L., Ergebn. inn. Med. Kinderheilk, 1924, *26*, 1.

ASKONAS B. A., RHODES J. M., Nature, 1965, *205*, 470.

BAIN B., ALBARRACIN. N., MCDONALD J., în *Leucocyte Culture Conference*, sub red. MCINTYRE O. R., Appleton Publ., New York, 1971, p. 155.

BEERS R., BRAUN W., *Biological effects of polynucleotides*, Edit. Springer, New York, 1971.

BENESTAD H. B., IVERSEN J., ROLSTAD B., Scand. J. Haemat., 1971, *8*, 44.

BENEZRA D., HELLER E., PITARO R., HOHMAN A., Israel J. Med. Sci., 1972, *8*, 987.

BOAK J. L., MITCHISON N. A., Transplant. Proc., 1969, *1*, 539.

BRUNNER K. T., Immunology, 1968, *14*, 181.

CANTOR H., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 172.

DAJANI B. M., KASIK J. E., THOMPSON J. S., Lancet, 1972, *II*, 1 094.

DAVID J. R., Proc. Nat. U.S. Acad. Sci., 1966, *56*, 72.

DIXON F. J., MAURER P. H., J. Immunol., 1955, *74*, 418.

DONGHERTY T. F., BERLINER M. B., SCHNEEBLI G. L., BERLINER D. L., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1964, *113*, 825.

DORIA G., AGAROSSI G., DI PETRO S., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 164.

ELLIOT E. V., SINCLAIR N. R. S. C., Immunology, 1968, *15*, 643.

FISHER D. B., MUELLER G. C., Proc. Nat. U.S. Acad. Sci., 1968, *60*, 1 396.

FISHMAN M., HAMMERSTROM R. A., BOND V. P., Nature, 1963, *198*, 549.

FRANZL R. E., Nature, 1962, *195*, 457.

FREIDLIN I. S., ARTENENKO N. K., TEIBER E. L., VOSKRESENSKI A. M., J. Mikrobiol., Epidemiol. Immunobiol. (Moscova), 1972, *49*, 66.

FRUHMAN G. J., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1964, *113*, 968.

FURTH R. VAN, *Mononuclear phagocytes*, Edit. Blackwell, Oxford, 1970.

FURTH R. VAN, COHN Z. A., HIRSCH J. G., HUMPHREY J. H., SPECTOR W. G., LANGEVOORT H. L., Bull. Wld. Hlth. Org., 1972, *46*, 845.

GABRIELSEN A. E., GOOD R. A., Adv. Immunol., 1966, *6*, 91.

GALLO R. C., YANG S. S., TING R. C., Nature, 1970, *228*, 927.

GERMUTH F. G., Pharmacol. Rev., 1956, *8*, 1.

GRANGER G. A., KOLB W. P., J. Immunol., 1968, *101*, 111.

GRASSI G. G., POZZI E., J. infect. Dis., 1972, *126*, 542.

GREAVES M. F., JANOSSY G., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 237.

GUTMAN G., WEISSMAN I. L., în *Morphological and fundamental aspects of immunity*, sub red. A. H. LINDAHL-KIESLING, Plenum Press, Cambridge, 1971, p. 595.

HARRIS G., Immunology, 1967, *12*, 159.

HARRIS T. N., HUMMELER K., HARRIS S., J. Exp. Med., 1966, *123*, 161.

HERSH E. M., HARRIS J. E., în *Leucocyte Culture Conference*, sub red. O. R. MCINTYRE, Appleton Publ., New York, 1971, p. 263.

JANOSSY G., GREAVES M. F., Clin. exp. Immunol., 1971, *9*, 483.

LANCE E. M., J. exp. Med., 1969, *130*, 49.

LANGEVOORT H. L., *Conference on Nomenclear Phagocytes*, Leiden, 2—5 septembrie 1969.

Scanned with OKEN Scanner

LAWRENCE H. S., LANDY M., *Mediators of cellular immunity*, Academic Press, New York, 1969.
LEDUC E. H., AVRAMEAS S., BOUTEILLE M., J. exp. Med., 1968, *127*, 109.
LINSCOTT W., WEIGLE W. O., J. Immunol., 1965, *94*, 430.
MANDEL T., RUSSEL P. J., Immunology, 1971, *21*, 659.
MAXIMOW A., *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, vol. 2, partea I, Edit. Springer, Berlin, 1927.
McGREGOR D. C., GOWANS J. L., J. exp. Med., 1963, *117*, 303; Progr. Allergy, 1965, *9*, 1.
METCALF D., MOORE M. A. S., *Hemopoietic cells*, North-Holland Publ., Amsterdam, 1971.
METCHNIKOFF A., *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*, Edit. Masson, Paris, 1892.
MILLER J. F. A. P., în *Cell interactions and receptor antibodies in the immune responses*, Acad. Press, New York, 1971, p. 293. Adv. Immunology, 1962, *2*, 111; Brit. Med. J., 1963, *19*, 214.
MITCHISON N. A., Immunopathology, 1971, *6*, 52.
MOORE M. A. S., OWEN J. T., J. exp. Med., 1967, *126*, 715.
MOSIER D. E., Science, 1967, *158*, 1 573.
NELSON D. S., *Macrophages in immunity*, North-Holland Publ., Amsterdam, 1968.
NELSON E. L., BECKER J. R., J. inf. Dis., 1959, *104*, 13.
NILSSON B. S., The Lancet, 1971, *II* (*7 716*), 374.
NORTH R. J., J. exp. Med., 1971, *134*, 1 485.
NOSSAL G. J. V., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 91.
OORT J., TURK J. L., Brit. J. exp. Path., 1965, *46*, 147.
OPPENHEIM J. J., Fed. Proc., 1968, *27*, 21.
OREN R., FARNHAM A. E., KAZUHISA S., KARNOVSKY M. L., J. Cell Biol., 1963, *17*, 487.
ORR T. S. C., ALLISON A. C., HALL D. E., Nature, 1971, *236*, 411.
PAVILLARD E. R., Austral. J. exp. Biol., 1963, *41*, 265.
PĂUN L., URSEA N., LUCA N., COCULESCU M., LUCA R., *Terapia imunosupresivă*, Edit. medicală, București, 1972.
PĂUNESCU E., Nature, 1970, *228*, 1 188; Ftiziologia, 1971, *20* (suppl.), 49; Ftiziologia, 1972, *21*, 449 și 563; Rev. roum. Méd., 1974, *12*, 233.
PĂUNESCU E., HADÎRCĂ-ILICA E., Rev. Roum. Biochim., 1964, *1*, 183 și 1965, *2*, 259.
PĂUNESCU E., MUȘĂȚEANU R., ZAHARESCU C., STOINESCU M., INDRIES A., Ftiziologia, 1971, *20* (suppl.), 41.
PĂUNESCU E., STOINESCU M., VASILE D., MOISESCU ȘT., Rev. Roum. Biochim., 1973, *10*, 137.
PĂUNESCU E., VASILESCU F., DĂNĂLACHE-DUMITRESCU M., Rev. Méd. Int., 1973, *10*, 193.
POGO B. T. G., J. Cell Biol., 1972, *55*, 515.
RABINOWITZ Y., WILHITE B. A., Blood, 1969, *33*, 759.
RAFF M. C., Transplant. Rev,. 1971, *6*, 52.
RAFF M. C., De PETRIS S., în *Cell interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 237.
ROBINEAUX R., PINET J., KOURILSKY R., Nouv. Rev. Franç. Hémat., 1962, *2*, 797.
SCOLNICK E. M., AARONSON S. A., TODARO G. J., PARK W. P., Nature, 1971, *229*, 318.
SEEGER R. C., OPPENHEIM J. J., în *Leucocyte Culture Conference*, sub red. O. R. McINTYRE, Appleton Publ., New York, 1971, p. 249.
SERROU B., SOLASSOL C., Nouv. Press Méd., 1972, *1*, 1 295; Transplantation, 1972, *14*, 654.
SHEPPARD J. R., Proc. Nat. U.S. Acad. Sci., 1971, *68*, 1 316.
SPECTOR W. G., LANGEVOORT H. L., Bull. Wld. Hlth. Org., 1972, *46*, 845.
TAYLOR R. B., DUFFUS P., RAFF M. C., DE PETRIS S., Nature New. Biol., 1971, *233*, 225.
THIERY J. P., Bull. Soc. Chim. Biol., 1968, *50*, 1 077.
THOMAS J. A., Rev. Hémat., 1949, *4*, 639.
TING R. C., YANG S. S., GALLO R. C., Nature new Biol., 1972, *239*, 163.
TURK J., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 3.
UNANUE E. R., ASKONAS B. A., J. exp. Med.. 1968, *127*, 915.
VALENTINE F. T., LAWRENCE H. S., J. Clin. Invest., 1968, *47*, 98.
VOLKMAN A., Ser. Haemat., 1970, *3*, 62.
VOLTERRA M., Sperimentale, 1927, *81*, 319.
WAKSMAN B. H., ARBONY S., ARNASON B. G., J. exp. Med., 1961, *114*, 997.
WARD P. A., REMOLD H. G., DAVID J. R., Science, 1969, *163*, 1 079.

Scanned with OKEN Scanner

3. DETERMINANȚI ANTIGENICI. CARACTERELE SUBSTANȚELOR ANTIGENICE

LYDIA MESROBEANU şi EUG. PĂUNESCU

În sens general, orice substanţă care, introdusă în organism, declanşează reacţii imunitare, este denumită *antigen*. Termenul de *determinant antigenic* se referă la capacitatea potenţială de a produce reacţii imunitare pe care o deţine o substanţă şi, în special, anumite secvenţe de grupări chimice prezente în molecula sa.

Pătrunderea în organism* a unei substanţe cu calităţi antigenice are loc de obicei pe cale parenterală (subcutan, intradermic, intramuscular, intravenos etc.); calea digestivă (alergii alimentare) sau cea respiratorie (alergii la polen) sînt mult mai rare. Odată pătruns în organism, un antigen poate provoca mai multe feluri de răspunsuri imunitare, printre care: a) apariţia de anticorpi circulanţi, care pot fi puşi în evidenţă prin reacţii de tip umoral (cap. 6); b) inducerea unei stări de sensibilitate celulară, care poate fi evidenţiată prin reacţii de hipersensibilitate întîrziată (cap. 7); c) instalarea unei stări refractare imunitare (cap. 5), care se traduce prin imposibilitatea de a obţine răspuns imun la administrarea ulterioară a antigenului (toleranţă imunologică).

În legătură cu termenul de „antigen" există două noţiuni direct corelate: *specificitatea* şi *antigenitatea* unei substanţe. *Antigenitatea* defineşte capacitatea unui preparat de a induce producerea de anticorpi (respectiv sensibilizarea celulară), iar *specificitatea* caracterizează calitatea substanţei de a reacţiona cu un anumit anticorp, faţă de care este considerată ca „specifică imunologic". Printre substanţele cu reactivitate imunologică există unele care se dovedesc specifice — adică au calitatea de a reacţiona cu anticorpii corespunzători (omologi) — dar nu sînt antigenice deoarece, inoculate la un animal, nu sînt capabile să provoace sinteza de anticorpi; aceste substanţe sînt cunoscute sub numele de *haptene* (antigene incomplete).

Prima observaţie asupra calităţilor antigenice ale unei substanţe a fost raportată — în 1890 — de către Behring şi Kitasato, care, inoculînd în repetate rînduri, la animalul de experienţă, doze subletale de toxine bacteriene (tetanică, difterică), constată că serul animalului dobîndeşte calitatea de a neutraliza specific toxina inoculată, abolindu-i efectele sale biologice. Ulterior, Pfeiffer (1893—1895) semnalează că inocularea cobailor cu vibrioni holerici omorîţi prin căldură face ca serul acestora să dobîndească proprietăţi bacteriolitice faţă de vibrioni.

În 1895, Bordet publică experienţele clasice prin care se demonstrează că introducerea în organism a unei substanţe de origine străină, sub formă

* Substanţe cu caractere antigenice pot să ia naştere direct în organism, prin modificări metabolice „neobişnuite", printre care mutaţiile somatice, inclusiv cele oncogene (Burnet, 1970). Antigenele „tumorale" sînt descrise în cap. 19.

Scanned with OKEN Scanner

complexă (spre exemplu o celulă microbiană vie sau moartă) sau purificată (proteine din ser eterolog), provoacă un răspuns particular din partea organismului-gazdă, serul acestui organism devenind capabil să reacţioneze cu substanţa inoculată. În acest proces, animalul se consideră ca *imunizat* împotriva substanţei inoculate, iar serul acestui animal este denumit *ser imun* sau *antiser*, deoarece conţine *anticorpii* a căror producţie a fost stimulată de un *antigen specific* : substanţa inoculată.

Substanţele antigene au natură foarte variată, atît ca origine (microorganisme, plante, animale), cît şi ca structură (proteine, polizaharide, lipide sau combinaţii între acestea). Pe baza acestei diversităţi marcate s-ar putea presupune că *orice* substanţă străină, ca origine şi (sau) structură chimică, ce pătrunde într-un organism, poate constitui un antigen. Acest lucru nu este însă general valabil, deoarece — ca un exemplu elocvent — o proteină cu origine foarte îndepărtată ca gelatina din pielea de crocodil sau de şarpe nu este antigenică pentru mamifere. Există însă alte criterii pe baza cărora se conferă calitatea de antigen unei substanţe.

A. CONDIŢII DE ANTIGENITATE

Practica a arătat că printre cele mai importante caractere ale unei substanţe antigenice este acela de a fi străină organismului în care pătrunde. Cu cît o substanţă provine dintr-o sursă taxonomic mai îndepărtată, cu atît antigenitatea sa faţă de animalul receptor va fi mai marcată.

Originea diferită a substanţei este o condiţie necesară, dar nu suficientă, deoarece multe substanţe pot fi „străine" ca origine, dar „înrudite" ca structură chimică, ceea ce le diminuă în mod apreciabil calităţile antigenice. Acesta este cazul hemoglobinei de cal, care are o structură chimică mult înrudită cu cea de iepure şi pentru care specie este foarte slab antigenică, în timp ce alte globuline de cal (cele ale serului sanguin, spre exemplu) sînt puternic antigenice pentru iepure. Similar, insulina — chiar dacă provine de la animale mult îndepărtate taxonomic, cum sînt calul şi bovinele—are o structură chimică foarte apropiată de cea a insulinei umane şi nu are calităţi antigenice importante pentru om. Condiţia ca o substanţă să aibă calităţi antigenice nu se referă deci atît la aspectul taxonomic, cît la cel structural şi anume *un preparat cu calităţi antigenice trebuie să deţină o structură chimică diferită de cea a substanţelor similare din organismul receptor.*

Pentru ca o substanţă să devină antigen faţă chiar de însuşi organismul care o sintetizează este suficient ca să sufere unele modificări chimice, structurale, minime ; acesta este cazul albuminei serice de iepure care devine antigenică pentru acest animal ca urmare a unei simple acetilări moderate ; sau cazul proteinelor serice de la unele persoane supuse unui tratament chimioterapic, condiţie în care se poate realiza o cuplare a medicamentului cu proteina serică, transformînd-o în antigen (cap. 7).

În unele afecţiuni, care se însoţesc de eliberarea în torentul circulator a unor componente din anumite ţesuturi şi organe ce în mod obişnuit nu pătrund în circulaţie (cum este cazul antigenelor din cristalin, rinichi, tiroidă, ţesut nervos, testicul), apar aşa-numiţii *autoanticorpi*, ca urmare a stimulului provocat de aceste „antigene de organ".

Scanned with OKEN Scanner

Un alt caracter important care contribuie la conferirea calităților antigenice unei substanțe este *existența unui anumit grad de complexitate structurală și a unei anumite talii moleculare.* Sub acest aspect, substanțele proteinice par să fie cele mai corespunzătoare, avînd o talie mare și, implicit, o complexitate marcată. Marea majoritate a substanțelor antigenice au, dealtfel, o structură proteinică, fapt care a determinat mult timp să se considere că pentru a fi antigenică o substanță trebuie obligatoriu să aibă o natură proteică. Această concepție a fost însă infirmată de cercetările care au demonstrat că inocularea de polizaharid capsular purificat pneumococic induce formarea de anticorpi specifici la șoarece (Pappenheimer și Enders, 1933; Avery și Goebel, 1933; Maurer și Mansmann, 1958) și la om (Francis, 1934; Heidelberger, 1956).

Atît în cazul proteinelor, cît și al altor substanțe antigenice complexitatea moleculei condiționează însă calitățile sale antigenice. Astfel, spre exemplu, este recunoscut că o serie de molecule proteice cu structură simplă (ca gelatina, protaminele etc.) sînt lipsite de calități antigenice, spre deosebire de substanțele complexe, de tipul hemocianinelor, care sînt puternic antigenice. O relație directă între antigenitatea unei substanțe și structura sa chimică a fost demonstrată pentru unele grupări chimice care asigură rigiditatea structurală a moleculei (Haurowitz, 1952). Acesta este cazul compușilor aromatici diazoici, cu calități antigenice, a căror rigiditate este conferită de ciclurile benzenice, spre deosebire de lanțurile parafinice care sînt ușor supuse distorsiunilor și care — prin aceasta — nu pot constitui grupări determinante ale antigenității.

Prezența ciclurilor aromatice în moleculă are mare importanță pentru conferirea calităților antigenice, însă nu este obligatorie. Astfel, cea mai mare parte a substanțelor antigenice conțin structuri aromatice, iar degradarea acestora duce la pierderea calităților de antigenitate; în același sens, nitratarea sau arsanilizarea unei substanțe neantigenice (gelatina) duce la conferirea calităților antigenice. Pe de altă parte, există multe alte substanțe care nu posedă grupări aromatice, fiind însă bune antigene: polizaharidele pneumococice, polistirenul sulfonat etc. În sfîrșit, însăși gelatina, cu toate că are în structura sa aminoacizi aromatici (fenilalanină, tirozină, histidină) nu posedă calități antigenice (Long, 1961).

După Haurowitz (1950), lipsa de antigenicitate a gelatinei are la bază trei cauze: 1) este o proteină denaturată prin căldură și nu are o structură internă fixă; 2) nu formează depozit în organismul în care este introdusă, ci se elimină rapid; 3) conține importante cantități de glicină (21,6—27,5 %), unul dintre aminoacizii care nu are ramificații în poziția α, ceea ce permite ca molecula să aibă rotații libere în jurul axului longitudinal, și, prin aceasta, să fie lipsită de o configurație fixă. În schimb, cuplarea gelatinei cu β, σ-glucozidotirozină îi conferă o configurație rigidă și, concomitent, dobîndește calități antigenice (Hopkins și Wollman, 1933).

Rezultă din această analiză că, *pentru ca o substanță să posede calități antigenice este necesar*: a) *să aibă o durată de „remanență" suficient de lungă în organismul inoculat* (adică să nu fie rapid excretată) și b) *să aibă o configurație stabilă*, care să poată fi „analizată" și „copiată" la nivelul sistemului limfoid-macrofagocitar (cap. 2 și 5).

Ca și în celelalte cazuri, aceste două condiții de antigenitate sînt esențiale, dar nici suficiente și nici exclusive. Cu alte cuvinte, nu orice

Scanned with OKEN Scanner

substanţă cu configuraţie stabilă este implicit şi antigenică, după cum nici orice substanţă care formează depozite în organism nu este neapărat un antigen. Astfel, spre exemplu, polimerul de *gumma accacia*, larg utilizat ca substituent sanguin în special în cursul primului război mondial, formează depozite de lungă durată în ficatul organismelor ce-l primeşte, fără să inducă formarea de anticorpi specifici.

Despre condiţionarea reciprocă dintre aceşti doi determinanţi antigenici — *remanenţa şi configuraţia stabilă* — argumentează şi o serie de cercetări ale colectivului condus de Haurowitz care, ca urmare a arsanilizării gelatinei, induce o rigiditate structurală a moleculei acesteia şi, implicit, apariţia calităţilor antigenice. Totuşi, faţă de un produs similar — arsanil-azo-globulina — derivatul arsanil-azoic al gelatinei se dovedeşte mai slab antigenic; această diferenţă a fost corelată cu gradul de remanenţă în organism al celor două preparate, constatîndu-se că, la o oră de la inoculare, arsanil-azo-gelatina se regăseşte 60 % în urină şi numai 4 % în ficat, în timp ce tot la o oră de la inoculare arsanil-azo-globulina — derivatul puternic antigenic — este găsit în proporţie de 34 % depozitat în ficat şi numai 9 % eliminat în urină.

Antigenitatea unei substanţe este de obicei afectată prin denaturare. Astfel, racemizarea unei molecule proteice, ca urmare a tratamentului cu alcali, duce la scăderea importantă a calităţilor sale antigenice. Iniţial, această „dezantigenizare" a fost pusă pe seama procesului de racemizare în sine, care ar sustrage molecula proteică de la acţiunea hidrolitică a enzimelor celulare; studii ulterioare (Lin şi colab., 1928) au dovedit însă existenţa unei activităţi tisulare hidrolitice şi faţă de proteinele racemizate. Pe de altă parte, studiile întreprinse de Landsteiner (1936) au arătat că alcalii au o acţiune distructivă asupra structurilor antigenice ale moleculei, în paralel cu efectul recemizant; Boyd (1965) semnalează că procesul de racemizare este precedat de o fracţionare a moleculei proteice, fapt care de asemenea impietează asupra calităţilor sale antigenice.

Dealtfel, este bine stabilit astăzi că hidroliza unei molecule alterează corespunzător activitatea sa antigenică; de exemplu reactivitatea imunologică a proteinelor descreşte paralel cu hidroliza progresivă.

Importanţa mărimii moleculei pentru calităţile sale antigenice este bine precizată (Landsteiner, 1936) şi în acest sens pledează faptul că substanţe cu talie moleculară mică, neantigenice sau foarte slab antigenice, pot dobîndi calităţi antigenice remarcabile dacă sînt adsorbite pe particule de colodiu, kaolin sau cărbune, proces care le asigură o creştere importantă a taliei moleculare.

Loiseleur, într-un studiu asupra antigenităţii unor substanţe cu talie moleculară mică (aminoacizi, acizi organici etc.), semnalează unele modificări ale proprietăţilor fizico-chimice ale serului organismelor „imunizate" cu aceste substanţe, fără a putea pune însă în evidenţă reacţii antigen — anticorp tipice.

Este bine precizat astăzi că anumite substanţe chimice simple, cu greutate moleculară mică (500—1 000), dacă sînt introduse pe cale parenterală, înglobate în adjuvant Freund sau aplicate direct pe tegument, pot declanşa anticorpi specifici. Aceştia din urmă sînt decelabili prin teste de hipersensibilitate imediată şi, mai ales, prin teste de tip anafilactic (cap. 7).

Scanned with OKEN Scanner

Calităţile antigenice ale acestor substanţe chimice simple sînt, în ultimă analiză, legate de capacitatea lor de a se combina cu anumite grupări reactive ale proteinelor tisulare din organismul în care sînt introduse. În acest sens argumentează, dealtfel, experienţele efectuate cu derivaţii 2,4-dinitrobenzenului (Landsteiner), prin care s-a demonstrat paralelismul dintre puterea antigenică şi capacitatea de a se combina cu proteinele tisulare.

Condiţiile de antigenicitate sînt deci complexe; ele grupează împreună o serie de proprietăţi particulare ale moleculei, proprietăţi care — luate fiecare în parte — sînt necesare dar nu suficiente, numai toate împreună asigurînd antigenicitatea.

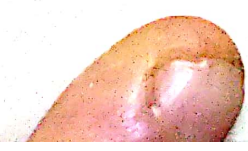
Printre determinanţii de antigenicitate s-au amintit: eterogenitatea chimic structurală a moleculei, prin comparare cu componenţii organismului de imunizat; talia şi complexitatea moleculei; prezenţa unor grupări chimice care să asigure stabilitatea structurală a substanţei; calităţile de remanenţă în organism ale moleculei inoculate etc.

O serie de cercetări au condus la concepţia că potenţialul antigenic al unei substanţe este supus controlului genetic. Astfel, spre exemplu, polizaharidele pneumococice specifice de tip sînt antigenice pentru om (Heidelberger, 1956) şi pentru şoarece (Avery şi Goebel, 1933), dar sînt lipsite de antigenitate pentru iepure (Avery şi Goebel, 1933) şi pentru cobai (Maurer şi Mansmann, 1958). O substanţă poate fi deci antigenică pentru o specie şi neantigenică pentru altă specie; ceva mai mult, o aceeaşi substanţă poate avea valori antigenice diferite pentru indivizii unei aceleiaşi colectivităţi, aparţinînd la aceeaşi specie, rasă etc. Este astăzi bine precizat că activitatea antigenică este direct corelată cu procesul de recunoaştere, captare şi prelucrare a antigenului de către celulele implicate în răspunsul imun. Capacitatea macromoleculelor de a activa mecanismele de imunitate este dependentă de posibilitatea organismului de a le scinda enzimatic în fragmente accesibile procesului de recunoaştere imunologică, proces care este — în final — sub control genetic nemijlocit. Devine astfel explicabil faptul că — deşi unii determinanţi antigenici, de tipul polizaharidelor haptenice, nu sînt accesibili scindării pe cale enzimatică — anumite organisme, care au o constituţie genetică favorabilă, le pot recunoaşte sub aspectul specificităţii imunologice.

B. CONDIȚII DE SPECIFICITATE

Bazele specificităţii imunologice ale unei substanţe cu calităţi antigenice au fost supuse unor investigaţii consecvente şi complexe, ceea ce a permis ca — în prezent — să fim în posesia unui număr important de cunoştinţe sistematizate asupra acestui subiect.

Încă de mult timp (Nuttall, 1904) s-a semnalat o specificitate de „specie" a antigenelor, strîns corelată cu clasificarea biologică. Astfel, spre exemplu, proteinele serice umane pot da unele reacţii încrucişate cu proteinele serului de maimuţă (urangutan, gorilă, cimpanzeu), dar nu se pot observa asemenea reacţii între proteinele umane şi cele



de la bovidee. De asemenea, pe cale serologică se pot distinge ovalbuminele de rață față de cele de la găină, diversele proteine vegetale și chiar hemoglobinele unor animale diferite. Aceste diferențieri sînt rezultatul variațiilor — mai mult sau mai puțin importante — ale sintezei metabolice la diversele specii animale, vegetale sau bacteriene, care se reflectă în compoziția și structura diferită a compușilor rezultați din aceste procese anabolice. Compușii cu structură chimică variată au și o reactivitate imunologică diferită, adică manifestă o „specificitate" imunologică distinctă.

Procese metabolice similare, de sinteză ușor diferențiată, a unor aceloraşi componente celulare sau tisulare, stau la baza specificității de „organ" constatată la o serie de organisme; astfel, spre exemplu, unele proteine din glanda mamară diferă de cele din rinichiul aceluiași organism, ele prezentînd specificitatea de „organ".

Pentru a-i asigura o reactivitate imunologică diferită, o „specificitate" particulară, este suficient să intervină foarte mici modificări în structura grupărilor active de suprafață ale unui antigen. Încă din 1906, Obermayer și Pick au semnalat că o simplă modificare în structura unei proteine — introducerea unei grupări NO_2 (nitratare) sau a unui atom de iod (halogenare) — este suficientă pentru a-i schimba specificitatea antigenică.

Asemenea studii, care utilizează modificări minime ale grupărilor reactive de suprafață ale moleculelor antigenice, au stat la baza investigațiilor făcute pentru *precizarea substratului specificității antigenice*. La aceste cercetări, un aport deosebit au adus Landsteiner (1945) și colaboratorii săi, care au constatat că, pe lîngă nitratare și halogenare, modificarea specificității antigenice se poate obține și prin procedee de esterificare, metilare sau acetilare, care blochează grupările reactive de suprafață (carboxilice, hidroxilice, aminice) ale aminoacizilor prezenți în lanțurile polipeptidice antigenice.

Landsteiner a utilizat pe scară largă diazoreacția pentru obținerea modificărilor de specificitate antigenică. Proteine de origini diferite (globuline din serul de cal și globuline din oul de găină), care nu reacționează imunologic încrucișat, dacă sînt supuse diazotizării formează azoproteine care dau reacții încrucișate cu antiserurile respective. Rezultate similare s-au obținut și cu metode mai puțin drastice de tratament, ca cele care folosesc tratarea proteinelor cu fenil-izocianat în soluție alcalină; acest produs reacționează cu grupările aminice libere formînd un derivat al ureei (fenil-ureidoproteine). Derivații proteici astfel obținuți de asemenea dau reacții serologice încrucișate, chiar dacă proteinele supuse acțiunii fenil-izocianatului au structuri chimice mult diferite.

Aceste investigații au demonstrat că *specificitatea imunologică depinde de anumite grupări chimice cu structură definită.*

Un *alt grup de determinanți* ai specificității antigenice *îl constituie caracterele stereochimice ale moleculei antigenice.* Compararea modificărilor de specificitate ale unui antigen în funcție de activitatea optică a izomerilor săi s-a realizat cu ajutorul antigenelor dextro-, levo- și mezotartrice, precum și cu ajutorul antigenelor glucozidice și galactozidice. Aceste studii au arătat că specificitatea antigenică este modificabilă numai prin simpla rearanjare diferită a unei aceleiași grupări chimice

în jurul unui singur atom de carbon (pozițiile dextro, mezo și levo) sau prin aranjarea similară în jurul atomului de C al unor grupări chimice puțin diferite ca structută (glucozid și galactozid).

Rezultate similare au fost obținute și cu izomerii *orto*, *meta* și *para* ai unui aceluiași compus. Astfel, dacă se prepară, pornind de la proteine neînrudite antigenic, azoderivați substituiți cu aceeași grupare

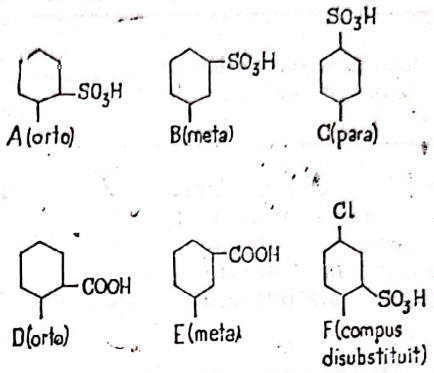


Fig. 10. — Determinismul stereochimic al specificității antigenice.

în compozițiile *orto*, *meta* și *para* (fig. 10 *A*, *B* și *C*) sau cu grupări diferite în aceste poziții (fig. 10 *D*, *E* și *F*), iar cu toți acești derivați se efectuează teste de precipitare cu serul anti-*orto* (*A*), atunci se observă următoarele: serul precipită masiv derivatul *orto*-omolog (*A*) și chiar derivatul *orto*-eterolog (*D*), dar nu precipită derivatul *orto*-omolog în care s-a realizat încă o substituție, de clor (*F*); serul precipită de asemenea și izomerul omolog *meta* (*B*), însă într-un titru mai slab; în ceea ce privește izomerul omolog *para* (*C*) sau izomerul eterolog *meta* (*E*), specificitatea antigenică se dovedește modificată, serul imun nemaidînd precipitate cu aceste substanțe.

Rolul determinant al structurilor izomerice pentru diferențierea specificității antigenice rezultă și din studiile privind capacitatea desensibilizantă încrucișată a diferiților izomeri antigenici. Astfel, s-au experimentat *orto*, *meta* și *para* conjugați ai azobenzensulfonatului cu albumina serului de cobai. În aceste încercări (Gell și Wolstencroft, 1967), un număr de cobai sînt sensibilizați cu unul dintre antigenele izomere (spre exemplu *o*-albumina) și apoi, pe loturi, sînt desensibilizați cu toți trei izomerii (*o*-, *m*- și *p*-albumina), iar în final este încercată din nou sensibilitatea animalelor la izomerii antigenici experimentați. Rezultatele acestor cercetări sînt redate în tabelul nr. 4 de unde rezultă că: *a*) izomerul *o* induce o sensibilitate la izomerii *m* și *p*; *b*) desensibilizarea cu izomerul omolog *o* este totală, în timp ce desensibilizarea cu izomerul *m* și mai ales cu *p* este numai parțială.

O altă categorie de determinanți ai specificității antigenice o constituie *poziția relativă a grupelor active* (*libere*) *în molecula antigenică*. O serie de cercetări în care s-au folosit azoproteine sintetizate din dipeptide de tipul glicil-glicină, leucil-leucină, glicil-leucină și leucil-glicină au demonstrat că aminoacidul terminal, purtător al grupării carboxilice libere, deține un rol deosebit în specificitatea imunologică. Astfel, un ser imun obținut cu compusul glicil-leucinic reacționează foarte bine cu antigenul corespunzător, dar mult mai slab cu antigenul leucil-leu-

cinic şi încă mai slab cu cel glicil-glicinic sau leucil-glicinic. Aceste studii — arătînd o deosebire a titrului precipitant dintre antigenele glicil-leucinic şi leucil-leucinic — indică de asemenea o influenţă asupra specificităţii antigenice şi din partea penultimului aminoacid din polipeptid.

Tabelul nr. 4

Reactivitatea încrucişată a unor izomeri haptenici

Animale sensibilizate cu izomerul *orto*-albuminic	Numărul de animale din lot	Intensitatea răspunsurilor (în mm) la intradermoreacţia cu :		
		izomerul *o*	izomerul *m*	izomerul *p*
Înainte de desensibilizare	12	11	9	7
După desensibilizare cu :				
izomerul *o*-albuminic	4	0	0	0
izomerul *m*-albuminic	4	11	0	0
izomerul *p*-albuminic	4	12	7	0

Cercetări ulterioare, realizate cu pentapeptide din diferite combinaţii de leucină şi glicină, au arătat că specificitatea antigenică este afectată — în proporţii relativ diferite — de toţi cei cinci aminoacizi terminali.

Pe baza acestor constatări, Marrack (1938) a emis ipoteza, actualmente larg confirmată, că ansamblul caracterelor imunologice ale proteinelor naturale este determinat de aranjamentul aminoacizilor de-a lungul lanţului polipeptidic; înspiralarea acestuia (cazul globulinelor) neutralizează acţiunea tuturor aminoacizilor care nu mai au acces la suprafaţa moleculei.

Mai multe grupări reziduale ale aminoacizilor învecinaţi pot reacţiona împreună, constituind o „arie" sau „centru" activ (*active patch*) (Marrack, 1953) pe suprafaţa antigenului, prezentînd o polaritate corespunzătoare pentru a putea acţiona ca un punct de combinare puternică şi caracteristică specificităţii antigenice a moleculei respective. O asemenea „arie activă" va fi desigur influenţată de orice rearanjări moleculare, cum ar fi cele ce au loc în cursul denaturărilor prin alcali, căldură etc., adică tocmai acele procese care afectează şi specificitatea antigenică a moleculei.

Suprafaţa unei „arii active" a antigenului a fost estimată de către Landsteiner şi Van der Scheer (1938) la aproximativ 7 m/μ^2, pe baza faptului că o proteină cuplată cu o haptenă ce conţine atît acid succinanilic, cît şi acid arsanilic induce anticorpi faţă de unul dintre cei doi acizi şi niciodată faţă de ambii acizi, iar dimensiunile suprafeţei fiecărui acid reactiv sînt de ordinul a 6—8 m/μ^2. La o estimare similară ajunge şi Karush (1956—1957), pe baza evaluării echilibrului de dializă dintre haptenă şi anticorpul corespunzător.

În ceea ce priveşte situsurile specifice ale antigenelor, progrese importante s-au realizat mai ales cu antigenele de tip poliozidic (Lüderitz şi colab., 1971; Robbins şi Wright, 1971), arătîndu-se că ele pot fi reprezentate chiar de un simplu trizaharid ca de exemplu: manoza -ramnoza -galactoza. Un asemenea polimer comportă un zahar simplu la care anticorpii sînt mai bine adaptaţi şi care va avea proprietatea

de a-i inhiba cu precădere. Acest zahar simplu a căpătat denumirea de „imunodominant".

În general, aşa după cum s-a arătat, situsurile specifice ale poliozidelor de la bacteriile Gram-negative, unde s-au făcut ample studii (Lüderitz, 1971) sînt reprezentate prin 5—6 zaharuri simple, iar acelaşi oligozid poate avea mai multe situsuri specifice.

Prin reacţii chimice, care au permis distrugerea selectivă a anumitor zaharuri simple (de ex. tratare cu acid periodic), s-a putut dovedi (Staub, 1964) prin reacţii de inhibiţie că zaharul imunodominant al factorului 3 de la salmonele din schema Kauffman-White este manoza, pentru factorul 1, glucoza, pentru factorul 9 teveloza, iar pentru factorul 4 abecvoza. Zaharurile imunodominante sînt de obicei situate la extremitatea lanţurilor poliozidelor salmonelelor, dar la pneumococ este situat în interiorul lanţului liniar. Graţie situării terminale a acestor zaharuri s-a putut demonstra foarte clar importanţa izomeriei descrisă la antigenele artificiale. Acesta este cazul colitozei şi abecvozei, doi izomeri optici cu specificităţi diferite.

Specificitatea antigenică este deci *legată de structura chimică a moleculei de antigen, de natura chimică şi de orientarea spaţială a diferitelor grupări active, de secvenţa elementelor componente* (*aminoacizi spre exemplu*) *de-a lungul polimerului respectiv* (polipeptid) *şi de gradul şi modul de torsionare a acestuia.* Rezumînd probele experimentale care argumentează pentru dependenţa specificităţii imunologice de structura chimică a moleculei antigenice, trebuie amintit că: *a*) polizaharidele, proteinele purificate — naturale sau sintetice — sau alte macromolecule care prezintă diferenţe de structură chimică, manifestă şi diferenţieri de specificitate imunologică; *b*) invers, proteinele şi polizaharidele care sînt înrudite din punct de vedere chimic dau reacţii serologice încrucişate; *c*) o serie de molecule mici sau chiar grupe funcţionale, dacă sînt cuplate cu macromolecule neînrudite chimic şi imunologic, fac ca aceste antigene să dobîndească specificitatea imunologică înrudită şi să dea reacţii serologice încrucişate; *d*) alterarea chimică, termică etc. a moleculelor antigenice afectează de obicei şi specificitatea lor imunologică; *e*) o serie de macromolecule, provenind de la specii diferite, dar avînd acţiuni funcţionale identice şi deci structuri chimice similare (hormoni, enzime etc.), reacţionează serologic încrucişat.

Din studiile clasice de imunochimie (Landsteiner, 1945) este bine cunoscut faptul că imunizarea unui organism cu un complex de proteină$_1$-haptenă duce la formarea de anticorpi circulanţi (serici) care reacţionează atît cu antigenul imunizant, cît şi cu haptena sa; dar, aceiaşi anticorpi reacţionează şi cu complexul proteină$_2$-haptenă (în care haptena este aceeaşi, dar purtătorul proteinic este altul). Asemenea cercetări au precizat şi demonstrat noţiunea de *specificitate de haptenă.*

Dacă însă imunizarea se face cu antigenul inclus în adjuvant Freund complet, atunci se instalează o stare de imunitate specială — hipersensibilitatea mediată celular sau de tip întîrziat (cap. 7) — caracterizată prin răspunsul celular specific pe care organismul îl declanşează atunci cînd antigenul este introdus intradermic. În cazul acestui tip de imunitate, animalul sensibilizat reacţionează la imunogen (haptenă-proteină), însă nu reacţionează nici la haptena singură şi nici la haptena

legată cu o altă proteină, diferită de cea care constituie purtătorul din complexul imunogen. Aceste observaţii dovedesc existenţa unei *specificităţi a purtătorului* de haptenă, specificitate care este distinctă de aceea a haptenei. O demonstraţie încă mai evidentă a acestui fenomen a fost adusă prin utilizarea unor antigene formate dintr-o haptenă cuplată cu o proteină care — singură — nu era imunogenă, datorită fie unei structuri chimice simple (cazul unor polipeptide sintetice, ca politirozina), fie faptului că era omologă (spre exemplu: administrarea la cobai de albumină de cobai). În acest din urmă caz, utilizînd pentru imunizarea cobailor complexe antigenice în care purtătorul haptenei a fost însăşi albumina de cobai, s-au obţinut reacţii încrucişate, slabe dar prezente, cu o serie de alte complexe antigenice, în care haptena era aceeaşi, dar albumina provenea de la alte mamifere, înrudite cu cobaiul; în schimb, în cazul cînd albumina de cobai din complexul antigenic era înlocuită cu proteine neînrudite, ca albumina aviară sau ca γ-globulinele de cal, reacţiile nu mai aveau loc. S-a conchis, pe baza ansamblului acestor rezultate, că specificitatea este adaptată nu numai la haptenă, dar şi la partea „purtătoare" a haptenei, proteina sau polipeptidul (Gell şi Wolstencroft, 1967; Rajewski şi colab., 1969).

Diferenţierea dintre specificitatea de haptenă şi cea de purtător, corelată cu tipul de imunitate indusă (mediată prin anticorpi sau prin celule), a beneficiat în ultimii ani de o analiză mai detaliată, datorită descompunerii fenomenului de cooperare între limfocitele T şi B (cap. 2). Aceste studii au arătat că haptena poate declanşa un răspuns imun secundar prin stimularea celulelor B (precursoarelor celulelor formatoare de anticorpi), în timp ce purtătorul este activ la nivelul celulelor T (celule „helper"), a căror proliferare o stimulează (Mitchison, 1971). Cu alte cuvinte, specificitatea de haptenă a antigenului este hotărîtoare pentru răspunsul de tip umoral, în timp ce specificitatea de purtător a moleculei antigenice afectează activitatea de cooperare („helper") a limfocitelor T.

O imagine reprezentativă despre mecanismul efector al acestor procese a rezultat din studiile asupra interacţiunii dintre antigen şi celulele imunocompetente. Aceste cercetări au demonstrat că atît limfocitele T, cît şi cele B sensibile au capacitatea de a recunoaşte antigenele printr-un mecanism stereospecific mediat de moleculele imunoglobulinice prezente pe membrana de suprafaţă a limfocitelor (cap. 2). Tipurile de imunoglobuline prezente pe suprafaţa acestor limfocite sînt diferite (lanţuri complete γ pe celulele B, lanţuri uşoare şi μ pe celulele T), ceea ce trebuie corelat cu capacitatea de reacţie diferenţiată a acestor celule cu diversele părţi ale moleculei antigenice: pentru fixarea stereospecifică a haptenei este necesară prezenţa lanţurilor complete γ, în timp ce fixarea purtătorului este realizată — la nivelul celulelor T — prin lanţuri uşoare sau μ.

Cercetările experimentale privind suportul chimic structural al specificităţii au mai demonstrat în plus faptul că *specificitatea imunologică* nu este absolută, ci *are un anumit grad de relativitate*. După cum s-a menţionat, specificitatea este determinată de anumite grupări chimice, active („centri activi") existente la suprafaţa moleculei antigenice, ea fiind independentă de restul moleculei; în acest sens, s-a amintit că o

Scanned with OKEN Scanner

serie de proteine, diferite din punctul de vedere al compoziţiei chimice şi al specificităţii imunologice (ca globulinele serului de cal şi cele ale oului de găină), dacă sînt transformate în derivaţi arsanil-azoici, dobîndesc aceeaşi specificitate imunologică, dînd reacţii serologice încrucişate. Pe de altă parte, după cum s-a subliniat anterior, o izomerie de poziţie identică poate determina o specificitate imunologică comună, chiar dacă din punct de vedere chimic cele două antigene izomere nu sînt identice.

C. HAPTENELE, ANTIGENE INCOMPLETE

Studiile în care s-au utilizat antigene sintetice — formate din proteină + gruparea chimică activă — au arătat că serul imun nu poate fi obţinut decît prin *administrarea antigenului complet*; inocularea singură a grupării chimice activă, fără proteina-suport, nu conduce la formarea de anticorpi. Reacţia serologică de evidenţiere a anticorpilor specifici de asemenea se obţine cu antigenul complet; dar, dacă în prealabil serul imun este pus în contact cu gruparea activă, atunci adăugarea ulterioară a antigenului complet nu mai duce la formarea precipitatului de antigen — anticorp. Acest proces este cunoscut sub numele de „reacţie de inhibiţie" şi are la bază capacitatea fragmentului activ de a se cupla specific cu anticorpul, blocîndu-se potenţialul de reacţie cu antigenul complet (cap. 6). Asemenea fragmente, chimic active şi specifice imunologic, care nu pot induce — singure — formarea anticorpilor, dar care, cuplate cu proteina, determină specificitatea imunologică a acesteia şi, totodată, pot reacţiona cu anticorpul corespunzător, blocîndu-l — au fost denumite *haptene*, *antigene parţiale* sau *antigene incomplete* (Landsteiner).

În sensul iniţial, pe care Landsteiner l-a conferit noţiunii de „haptenă", aceste antigene parţiale ar fi substanţe simple, cu o talie moleculară mică (de ex., acizii aminobenzoici, arsanilaţii, dipeptidele şi pentapeptidele, pirazolona, acidul acetil-salicilic etc.). Numeroase cercetări ulterioare — care sînt menţionate în paragrafele următoare — au arătat însă că o serie de compuşi cu structură complexă şi talie moleculară mare (ca numeroase polizaharide bacteriene, tuberculofosfatidul şi chiar polipeptide de tipul P.P.D.) nu posedă decît calităţi de specificitate antigenică, neputînd induce — singure — formarea de anticorpi. Există deci haptene cu talii moleculare foarte variate, care asigură specificitatea antigenului complet, dar care — fără proteina-suport — nu pot asigura producţia de anticorpi.

Legătura chimică dintre haptenă şi purtător (suport) trebuie să fie de tip covalent (Mitchison, 1967; Hamaoka şi colab., 1971). În caz contrar, are loc o disociere ionică şi imunizarea faţă de haptenă nu se mai poate produce.

În afară de specificitate, haptena — în funcţie de talia moleculară — poate influenţa şi calităţile de antigenicitate ale substanţei antigen. În acest sens, Landsteiner şi Van Der Scheer (1932) au realizat experienţe cu ajutorul unor antigene sintetice în care haptenele aveau talii

Scanned with OKEN Scanner

moleculare variate: mici (derivatul anilinic al acidului succinic), mijlocii (derivatul anilinic al acidului adipic) şi mari (derivatul anilinic al acidului suberic, acid gras cu lanţ alifatic lung). Serurile imune obţinute cu aceste antigene permiteau reacţii de precipitare cu antigenul omolog, care erau mai nete în cazul antigenelor a căror haptenă avea talie moleculară mai mare. În plus, chiar în absenţa proteinei-suport, haptena cu greutate moleculară cea mai mare, derivată de la acidul suberic, putea să dea reacţii de precipitare intense atunci cînd era pusă în contact cu serul imun omolog.

Aceste diferenţe de comportare, corelate cu gradul de complexitate al substanţei, au determinat pe unii autori (Wilson şi Miles, 1955) să clasifice complexele antigenice în trei grupe:

a) *Haptene simple* — cuprinzînd substanţele chimice relativ simple, care posedă specificitate imunologică; se combină cu anticorpul omolog, prevenind astfel precipitarea acestuia, dar *in vitro* nu formează precipitatele în contact cu anticorpii omologi, iar *in vivo* nu stimulează producerea de anticorpi.

b) *Haptene complexe* — cuprinzînd substanţele chimice relativ complexe, care posedă specificitate imunologică; se combină cu anticorpul omolog precipitant, dar *in vivo* nu stimulează producerea de anticorpi.

c) *Antigene complete* — cuprinzînd substanţele dotate cu specificitate imunobiologică, reacţionînd prin precipitare cu anticorpii şi stimulînd producerea acestora.

Desigur că această clasificare are o importanţă în primul rînd de ordin didactic, deoarece în natură există unele substanţe cu caractere antigenice care se situează între aceste categorii.

O clasificare mai judicioasă a haptenelor, în general acceptată astăzi, împarte aceste substanţe în două categorii:

1) *Haptenele precipitante* corespund „haptenelor complexe" din clasificarea anterior menţionată. Această grupă cuprinde substanţe chimice relativ complexe, care posedă specificitate imunologică şi reacţionează cu anticorpii omologi cu formare de precipitate, dar care nu stimulează producerea de anticorpi *in vivo* (trebuie însă menţionat că există unele haptene polizaharidice care nu sînt imunogene pentru iepure, dar la om şi şoarece pot dezvolta anticorpi). Printre haptenele precipitante se numără în primul rînd o serie de polizaharide bacteriene, dintre care cele ale germenilor Gram-negativi şi ale pneumococilor au fost mai amănunţit studiate.

2) *Haptenele inhibitorii şi neprecipitante* sînt haptene incomplete şi corespund „haptenelor simple" din clasificarea anterior menţionată. Această grupă cuprinde substanţe chimice relativ simple, care nu pot stimula producerea de anticorpi, dar pot reacţiona cu anticorpii omologi, pe care îi blochează fără a da naştere la precipitate. Anticorpii blocaţi de haptenele inhibitorii nu mai pot reacţiona cu antigenul complet inductor şi nici cu haptena precipitantă a acestuia.

Mecanismul de acţiune al haptenelor inhibitorii neprecipitante are la bază existenţa în aceste substanţe a unora dintre determinanţii antigenici de specificitate, care, în contact cu anticorpul, ocupă (blochează) locul corespunzător de pe molecula anticorpului, făcîndu-l inac-

Scanned with OKEN Scanner

cesibil pentru determinanții antigenici ai antigenului complet sau ai haptenei precipitante.

Asemenea haptene au fost cu succes folosite pentru precizarea determinanților de specificitate ai unor antigene (antigenele specifice de grup sanguin).

D. VALENȚA ANTIGENELOR

Dovezile experimentale obținute de diferiți autori au dus la concluzia că fiecare „arie activă" de pe suprafața unei molecule antigenice poate induce formarea unui anticorp coprespunzător. Rezultă astfel că, în funcție de numărul grupărilor reactive prezente pe suprafața unei molecule-antigen, se va stabili și capacitatea acesteia de a reacționa cu un număr mai mare sau mai mic de molecule-anticorp.

Numărul de molecule-anticorp cu care poate reacționa o singură moleculă antigen reprezintă valența antigenului.

Dacă ar fi cunoscută natura exactă a tuturor determinanților dintr-o moleculă-antigen naturală, atunci ar fi mai ușor de calculat valența sa. Necunoscînd însă toți determinanții chimici ai unei molecule, estimarea numărului acestora se face cu ajutorul analizei precipitatelor rezultate în prezența excesului de anticorpi. Valorile obținute prin această metodă nu sînt desigur decît estimative și minimale (tabelul nr. 5), deoarece cauze de ordin spațial nu permit ca o moleculă-antigen care posedă un număr mare de determinanți antigenici să poată fi saturată în același moment, la toți „centrii activi" pe care îi deține. Din aceste considerații rezultă pe de o parte că între valența determinată și cea reală a unei molecule-antigen pot exista deosebiri, iar pe de altă parte că valența determinată este rezultanta dintre numărul de „arii active" și suprafața antigenului (talia sa moleculară). Cu alte cuvinte, un număr relativ redus de „arii active" pot fi parțial mascate în cursul determinărilor dacă talia moleculei-antigen este mică, în timp ce același număr de „arii active" poate fi total evidențiat dacă talia moleculei-antigen este destul de mare (Boyd, 1965; Kabat și Mayer, 1971).

Tabelul nr. 5

Valența minimală și greutatea moleculară (G. M.) a unor substanțe antigenice

Antigenul	Valența minimală	G.M. (x 10^3)
Ribonucleaza	3	13
Ovalbumina	5	42
Albumina serică	6	66
Toxina difterică	8	72
Tiroglobulina	40	650
Hemocianina din *Busycon*	74	6 500
Hemocianina din *Viviparus*	231	6 500

Dacă în cazul antigenelor naturale (proteine, polizaharide pneumococice, polistireni etc.), numărul determinanților de specificitate este greu de cunoscut, în cazul antigenelor sintetice acest număr poate fi apreciat cu ajutorul metodelor chimice (titrare etc.). Cercetările întreprinse cu ajutorul antigenelor sintetice (Boyd, Haurowitz, Marrack) au arătat însă existența unor diferențe similare între numărul determinanților

chimici de specificitate şi numărul de valenţă estimat prin metode serologice; aceste diferenţe au drept cauză faptul că unele dintre grupările chimice active nefiind la suprafaţa moleculei nu sînt accesibile moleculelor-anticorp, dar sînt accesibile metodelor chimice de estimare.

Experienţele cu antigene sintetice au permis însă precizarea numărului minim de „arii active", indispensabile pentru realizarea efectului precipitant al reacţiei antigen-anticorp. Acest număr minim a fost găsit variabil, în funcţie de tipul determinantului chimic al specificităţii şi de structura suportului antigenic la care se cuplează determinantul. Astfel, pentru arsanil-azocaseină, Hooker şi Boyd (1932) calculează ca fiind necesară o medie de 13 grupe active per molecula de caseină pentru realizarea precipitării, iar Haurowitz (1936), în mod similar, pentru arsanil-azo-globulină calculează numărul minim de detreminanţi necesari pentru precipitare ca fiind situat între 10 şi 20. În general, pentru antigenele cu greutate moleculară medie, aceste cercetări au fixat între 5 şi 15 numărul minim de grupări reactive necesare pentru realizarea precipitării complexului antigen — anticorp (cap. 6). Aceste date explică în parte imposibilitatea de a obţine precipitate în prezenţa serului imun, în cazul unor antigene care au un număr insuficient de determinanţi; există însă şi alte cauze — deseori mai importante — care împiedică formarea precipitatelor de complexe antigene—anticorpi şi care sînt descrise în cap. 6.

Rolul şi importanţa polivalenţei antigenice a unei substanţe a fost mai recent subliniată nu numai în ceea ce priveşte posibilităţile de a pune în evidenţă *in vitro* reacţiile antigen-anticorp (cap. 6), dar şi pentru realizarea inducţiei imunităţii şi declanşării răspunsului imun. După cum s-a arătat în cap. 2, reacţia de stimulare prin antigen a celulelor imunocompetente începe prin fixarea antigenului pe imunoglobulinele de la suprafaţa acestor celule. Fiecare tip de determinant antigenic este recunoscut şi fixat de o anumită imunoglobulină (Mäkelä şi Cross, 1970). În aceste condiţii, dacă antigenul este polivalent, imediat ce va fi fixat la celulă printr-un determinant, alte molecule de imunoglobulină vor reacţiona cu ceilalţi determinanţi, rezultînd o aglomerare importantă de molecule imunoglobulinice la nivelul fixării antigenului. Această aglomerare, denumită „petec" (*patch*), este cea care asigură în final endocitoza moleculei de antigen şi, astfel, stimularea celulei imunocompetente (Taylor şi colab., 1971) (cap. 2).

Antigenele monovalente nu sînt capabile să declanşeze transformarea blastică şi proliferarea limfocitelor. Ele sînt fixate de imunoglobulinele de suprafaţă dar, fiind monovalente, nu pot aglomera mai multe molecule de imunoglobulină şi nu pot determina endocitoza (Rajewski şi colab., 1969; Taylor şi Iverson, 1971).

În schimb, datorită faptului că se fixează pe imunoglobulinele limfocitare de suprafaţă, antigenele monovalente pot exercita un rol imunosupresor. Blocînd suprafaţa membranei limfocitare, aceste antigene nu permit fixarea altor molecule antigenice polivalente care — ca urmare a procesului de endocitoză pe care îl pot declanşa — ar fi capabile să iniţieze un răspuns imun.

Scanned with OKEN Scanner

E. TIPURI DE ANTIGENE

Calitatea de substanţă antigenică, capabilă să dea naştere la anticorpi, aparţine îndeosebi proteinelor şi polizaharidelor. În ceea ce priveşte substanţele lipidice şi acizii nucleici există încă discuţii (fig. 11).

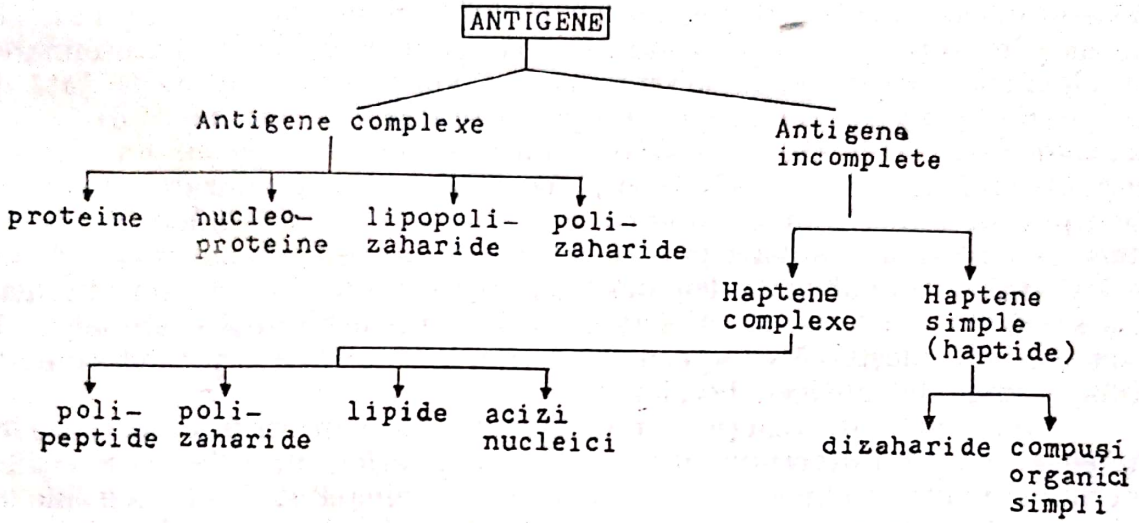


Fig. 11. — Schema clasificării antigenelor în funcţie de structura lor chimică.

Proteinele sînt în marea lor majoritate antigenice, pe cînd polipeptidele şi histonele numai rareori posedă asemenea proprietăţi. Totuşi, în grupa proteinelor se observă mari variaţii în ceea ce priveşte puterea imunogenă a diferitelor tipuri, fără a cunoaşte în toate cazurile baza fizico-chimică care o condiţionează. Astfel, multă vreme s-a considerat gelatina inertă din punct de vedere imunologic, pentru a observa ulterior că, în anumite condiţii (înglobare în adjuvant Freund complet), este totuşi dotată cu putere imunogenă. Pe de altă parte, se ştie că ovalbumina şi globulinele sînt antigene mai puternice decît albumina serică, caseina şi hemoglobina.

Desigur, prin cunoaşterea din ce în ce mai amănunţită a compoziţiei şi structurii proteinelor (primară, secundară, terţiară şi cuaternară) se va putea găsi o explicaţie a acestor diferenţe. În prezent, însă, sînt foarte puţine proteinele a căror constituţie şi structură sînt bine cunoscute; printre acestea sînt: insulina, ribonucleaza, citocromul c, proteina virusului mozaicului tutunului, papaina, hemoglobina, imunoglobulinele.

Dintre toate aceste proteine, cea a virusului mozaicului tutunului a făcut obiectul unor ample cercetări imunologice, studiindu-se proprietatea imunogenă a virusului intact, a proteinei A extrasă din virus şi a altei proteine omologe (proteina X) extrasă din planta infectată. S-a constatat însă că serul anti- „virus intact", epuizat cu proteina X şi A, continuă să reacţioneze cu virusul, iar serul anti- „proteină A", epuizat cu virusul, continuă să precipite cu proteina A. În schimb, serul anti „-proteină X", adsorbit cu virusul intact, nu mai precipită proteina X. Proteinele X şi A, în anumite condiţii, se pot repolimeriza. În acest caz dau o

particulă de virus neinfecţioasă, dar care este capabilă să elimine toţi anticorpii anti-virus original. Este probabil că reagregarea face să apară un determinant nou, legat de o altă orientare a subunităţilor.

Un progres important în studiile de imunogenitate a proteinelor îl constituie cercetările efectuate cu „copolimeri" de aminoacizi. Cercetările lui Landsteiner (1945) asupra polipeptidelor sintetice au adus contribuţii importante la cunoaşterea bazelor specificităţii imunologice a moleculelor proteice. Aceste cercetări au demonstrat importanţa secvenţei aminoacizilor în lanţul polimer şi rolul aminoacidului terminal în determinarea specificităţii antigenice. În acest sens, s-a constatat că anticorpii faţă de un polimer pentaglicinic (GGGGG) pot reacţiona cu copolimerii di-, tri- şi tetraglicinici (GG; GGG; GGGG), dar nu dau reacţie cu un polimer tetraglicin-monoleucinic (GGGGL). De asemenea, imunizarea realizată cu ajutorul unui compus simetric ca amino-izoftalil-glicinleucina (GIL) duce la formarea a două tipuri de anticorp : anti-*m*-aminobenzoil-glicină (G) şi anti-*m*-aminobenzoil-leucină (L); anticorpii anti-G nu sînt eliminaţi din ser decît de antigenul ce conţine G, iar anticorpii anti-L numai de L, fapt care dovedeşte că compusul GIL (fig. 12) constituie un determinant dublu antigenic (antigen bivalent).

Capacitatea de reacţie a unui antigen este în strînsă relaţie şi cu lungimea lanţului determinantului respectiv; astfel, intensitatea reacţiilor încrucişate între polimerii cu leucină (L) terminală şi 1—4 molecule de glicină (G) creşte pe măsură ce se măreşte lanţul polimerului determinant.

Substanţele cu greutatea moleculară ridicată, obţinute prin copolimerizarea unui singur aminoacid sau a cîtorva α-aminoacizi, au făcut obiectul cercetărilor mai multor autori (Sela, Maurer, Benacerraf, Stahmann şi alţii). S-a constatat că unii copolimeri, ca polialanina şi polilizina, sînt inactivi ca putere imunogenă, dar dacă li se adaugă un aminoacid aromatic (tirozina, fenil-alanina sau histidina) devin activi. Dacă, de exemplu, în molecula de gelatină (puţin imunogenă) se introduce glucozido-tirozină în mici cantităţi (2 %) se constată o creştere considerabilă a proprietăţii imunogene a gelatinei. În acest caz se realizează inducerea activităţii imunogene, fără să se modifice substanţial specificitatea imunologică a moleculei. Dacă însă se depăşeşte un anumit grad de substituţie, se

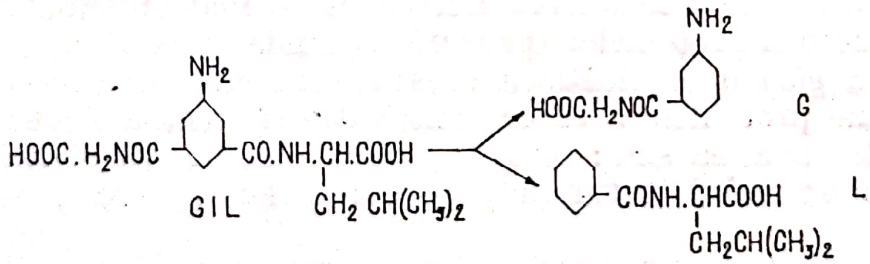


Fig. 12. — Structura chimică a compusului sintetic GIL (amino-izoftalilglicin-leucina)

induce şi schimbarea specificităţii, nemaiobţinîndu-se anticorpi antigelatină. Sela conchide că prin asemenea experienţe se poate face distincţie între imunogenicitate şi specificitate, dovedindu-se totodată că numai o structură limitată a moleculei este responsabilă de puterea imunogenă, pe cînd specificitatea depinde de alte structuri (determinanţi antigenici).

Scanned with OKEN Scanner

Pe baza aceloraşi cercetări se ajunge la concluzia că nu atît talia antigenului joacă rol în răspunsul imun, deoarece chiar molecule cu greutate moleculară de 4 000 pot fi active, cît „aria" responsabilă de inducerea antigenicităţii, care trebuie să fie accesibilă „locului" de biosinteză a anticorpului.

Pe de altă parte, s-a constatat că o serie de proteine sintetice macromoleculare, neutre din punctul de vedere al sarcinii electrice, pot fi antigenice, ceea ce demonstrează că grupările încărcate electric nu sînt esenţiale pentru imunogenitate.

Peptidele conţinînd D-tirozină posedă capacităţi similare din punct de vedere imunogenic celor cu L-tirozină, deşi alte peptide cu D-aminoacizi nu s-au dovedit imunogene (Sela şi Fuchs, 1964).

Nu este încă lămurit dacă această diferenţă de imunogenitate între peptidele formate cu aminoacizi D şi L este datorită absenţei, la nivelul macrofagelor, a unor enzime proteolitice specializate pentru desfacerea peptidelor cu D-aminoacizi, ceea ce ar implica acţiunea enzimelor respective în răspunsul imun, sau dacă configuraţia optică joacă un rol special în imunizare. Alţi autori au reuşit să inducă răspuns imun la iepuri cu polipeptizi formaţi din D-tirozină, acid D-glutamic şi D-lizină, ceea ce arată că anumiţi copolimeri D ar fi antigenici.

Este sigur că, pe lîngă factorii chimici, intervin şi factori genetici în comportarea imunogenă a polipeptidelor de configuraţie optică opusă.

Polizaharidele. Spre deosebire de proteine, polizaharidele par să aibă o putere imunogenă mult mai slabă. Astfel, unele polizaharide de origine animală, ca acidul hialuronic sau condroitin-sulfatul, bine purificate, lipsite de orice urmă de proteină, sînt evident neantigenice (nu se constată anticorpi corespunzători în serul animalelor normale sau inoculate cu asemenea preparate). Cu toate că aceste substanţe deţin adesea calităţi haptenice de mare reactivitate, cele mai multe polizaharide — printre care chiar cele din capsula unor bacterii sau din peretele lor celular — nu sînt antigenice pentru multe specii animale sau numai slab antigenice pentru alte specii. În acest sens, polizaharidul pneumococic este antigenic pentru şoarece şi om, iar dextranul cu greutate moleculară mare este antigenic la om; nu a fost însă descris pînă în prezent nici un polizaharid care să fie antigenic pentru cobai sau iepure. Polizaharidele bacteriene sînt antigene „timus—independente" (cap. 2), stimulînd direct celulele B.

Polizaharidele care joacă rol de rezervă în organism, cum este glicogenul, sînt lipsite de capacitate imunogenă. Există însă unele polizaharide, obţinute de la helminţii paraziţi, care posedă calităţi imunizante, cu toate că au o structură similară cu cea a glicogenului.

Anumite polizaharide microbiene, de tipul celor extrase din pneumococ şi din enterobacteriacee, ca şi dextranii izolaţi din *Leuconostoc mesenteroides*, au jucat un rol important în dezvoltarea imunochimiei, fiind substanţe mult mai puţin complexe decît proteinele şi mai rezistente la manipulările experimentale.

Există două feluri de polizaharide: *poliozide liniare*, în care fiecare monozaharid component este legat de numai un alt monozaharid, şi *poliozide ramificate*, în care anumite zaharuri, sînt legate de două alte zaharuri, rezultînd astfel ramificaţii ale structurii polimerului de bază. În

Scanned with OKEN Scanner

cazul poliozidelor ramificate se disting două posibilităţi : existenţa unui lanţ central liniar care poartă o serie de ramificaţii laterale sau lipsa unui asemenea lanţ central şi prezenţa unor ramificaţii dispuse fără o anumită simetrie. Importanţa lanţurilor laterale pentru determinarea specificităţii unui poliozid este recunoscută de toţi imunologii, însă rolul zaharurilor din lanţul central a constituit obiectul multor controverse. Azi este însă demonstrat că atît poliozidele liniare cît şi cele ramificate pot deţine un rol de specificitate în cadrul răspunsului imun.

Dintre polizaharide, cele mai studiate au fost poliozidele bacteriene, printre care cele ale pneumococilor de tip III deţin prioritatea sub aspect cronologic. Pe baza studiilor lui Goebel s-a stabilit că polizaharidul pneumococic de tip III este un polimer de acid celobiuronic şi glucoză. Datorită prezenţei acidului celobiuronic şi în molecula poliozidului pneumococic tip VIII, între aceste două poliozide se obţin reacţii serologice încrucişate. Cercetările clasice ale lui Heidelberger şi Goebel au arătat rolul acestui component pentru specificitatea antigenică : prin cuplarea acidului celobiuronic cu o proteină şi prin administrarea acesteia la iepure se obţin anticorpi care precipită atît cu pneumococii de tip III, cît şi cu cei de tip VIII.

Poliozidele pneumococilor de tip IV, VIII şi XXXIV sînt de asemenea bine studiate.

Un alt tip de polizaharide — dextranii — sînt secretate de bacteriile din genul *Leuconostocus* ; acestea nu sînt antigenice la iepure, dar la om pot să fie dacă greutatea lor moleculară depăşeşte 90 000. Ca şi în cazul polizaharidelor pneumococice, dextranii par să constituie una din puţinele excepţii de la regula că poliozidele, singure, nu pot induce formarea de anticorpi. Împreună cu Holborow şi Loewi (1967), poate fi însă susţinută ipoteza că aceste polizaharide, în organismul uman, spre deosebire de cel al iepurelui, pot găsi anumite polipeptide cu care să se cupleze, formînd complecşi polizaharidpolipeptide inductori de anticorpi. Un mecanism similar este incriminat în cazul inoculării, împreună cu microorganisme omorîte, a unor polizaharide vegetale, neantigenice (ca agarul şi alginata) ; procedeul duce la formarea de anticorpi specifici faţă de aceste polizaharide haptenice.

Dextranii sînt poliozide constituite numai din unităţi de glucoză, iar diferenţa dintre diversele tipuri de dextrani rezultă din modul de legătură dintre unităţile de glucoză. În molecula de dextran au fost identificate legături $1 \rightarrow 2$, $1 \rightarrow 3$, $1 \rightarrow 4$ şi $1 \rightarrow 6$, iar studiile lui Kabat şi colaboratorii au arătat că aceste tipuri de legături pot determina mici diferenţe de specificitate antigenică a moleculei.

Fiecare ramificaţie laterală a polimerului de glucoză ce constituie axul central al dextranului, în funcţie de tipul de legături dintre unităţile de glucoză şi de numărul acestor unităţi, poate constitui un determinant de specificitate (Kabat, 1957).

Rolul haptenelor polizaharidice în diferitele procese de imunitate a fost reliefat prin cercetări comparative între imunitatea de tip umoral şi cea de tip celular (Holborow şi Loewi, 1967 ; Gell şi Wolstencroft, 1967).

Atît la om, cît şi la animalul de experienţă, inocularea de substanţe antigenice duce la instalarea unei stări de hipersensibilitate specifică (cap. 7). Această stare de imunitate poate fi evidenţiată prin inocularea

intradermică a antigenului, ceea ce duce fie la o reacţie locală *imediată*, datorită anticorpilor circulanţi, fie la o reacţie locală *întîrziată*, care este mediată de celulele mononucleare sensibilizate la determinanţii antigenului respectiv. Starea de hipersensibilitate imediată este de tip umoral, ea putînd fi transferată pasiv prin intermediul serului sanguin, în timp ce starea de hipersensibilitate întîrziată este de tip celular, ea putînd fi transferată pasiv numai prin intermediul celulelor mononucleare.

Hipersensibilitatea imediată poate fi indusă, la unele specii animale (şoarece, om), de către anumite polizaharide bacteriene şi de orice antigen cu haptenă polizaharidică; iar răspunsul imun de tip imediat poate fi declanşat de polizaharidul specific singur, în absenţa proteinei-suport, ceea ce dovedeşte specificitatea haptenică a acestei stări de sensibilitate.

Hipersensibilitatea celulară, însă, nu poate fi indusă de polizaharide singure, iar atunci cînd este produsă cu ajutorul unui antigen cu haptenă polizaharidică declanşarea fenomenelor celulare specifice nu se poate produce decît numai cu ajutorul purtătorului proteinic al antigenului, haptena polizaharidică fiind ineficientă (cap. 7).

Acizii nucleici. În ceea ce priveşte acizii nucleici (DNA şi RNA), aceste macromolecule sînt considerate în general ca neantigenice. Există însă o serie de observaţii în care se arată că în anumite condiţii ei pot forma anticorpi, mai ales atunci cînd sînt inoculaţi sub formă de complexe cu alte substanţe, ca proteinele sau carbohidraţii. În lupusul eritematos, DNA ar interveni ca antigen. Barbu şi Panigel (1961) au arătat că se pot obţine seruri anti-RNA ca urmare a inoculării de ribosomi. Pînă în prezent însă serurile anti-DNA şi RNA nu au permis o diferenţiere serologică între diversele antigene DNA şi RNA. Astfel, serurile anti-RNA reacţionează cu toate preparatele de RNA înalt polimerizate, indiferent de originea lor (Plescia şi colab., 1965).

Christian şi colab. (1965) au observat apariţia de anticorpi anti-DNA precipitanţi şi fixatori de complement (C′) în următoarele circumstanţe: *a*) pe cale naturală, în serul unor persoane cu lupus eritematos sistemic; *b*) după imunizarea iepurilor cu bacteriofagul T de *Escherischia coli*; *c*) după hiperimunizarea iepurilor cu spermatozoizi de mamifere sau somon; *d*) după inocularea iepurilor cu grupări haptenice, purinice şi piramidinice; *e*) după imunizarea iepurilor cu DNA denaturat prin căldură şi complexat cu albumină metilată de ser de bou; *f*) după hiperimunizarea iepurilor cu bacterii Gram-negative omorîte prin formalină.

Anticorpii anti-DNA obţinuţi prin aceste metode pot fi evidenţiaţi cu suficientă uşurinţă prin metoda de titrare a fixării fracţiunii C′ a complementului.

Lipidele sînt considerate ca lipsite de capacitate imunogenă şi chiar de calităţi de specificitate, deoarece nu au putut fi descrise cazuri în care lipide pure să poată provoca un răspuns imunologic.

Specificitatea unor anumite antigene active, de origine tisulară, este însă sub dependenţa unor factori lipidici (cazul antigenului Forssman) sau a unui determinant de natură lipidică (cum este cardiolipina sau haptena Wassermann). S-a demonstrat că această cardiolipină are calităţi haptenice, deoarece, cuplată cu anumite proteine poate induce elaborarea de anticorpi care se comportă ca „reagina Wassermann" prezentă în serurile

sifilitice. Cardiolipina este foarte răspîndită la toate animalele, la anumite microorganisme şi la vegetale, dar anticorpul corespunzător nu se găseşte decît în serurile indivizilor cu treponemoze. Chiar inoculările de treponeme nepatogene nu provoacă apariţia de reagine.

Rolul fracţiunii lipidice în endotoxina germenilor Gram-negativi este tratat într-un paragraf special (fig. 13).

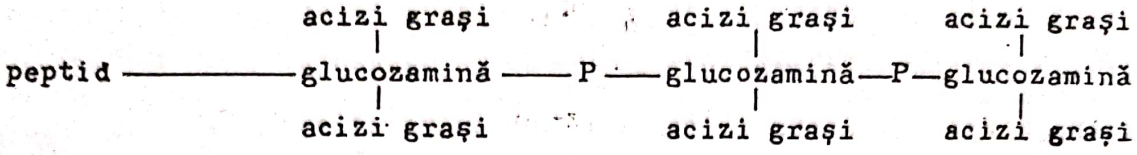


Fig. 13. — Structura chimică a lipidului A.

F. ANTIGENELE VIRALE

Particulele de virus au o structură nucleoprotidică. Molecula internă de acid nucleic —RNA sau DNA — este purtătoarea puterii infectante a virusului şi este înconjurată de o pătură proteică neinfecţioasă dar care manifestă o accentuată capacitate imunogenă. Acest înveliş proteic, denumit „capsidă", se poate prezenta, la examenul electronooptic, fie sub forma unei serii de elemente chimic identice („capsomere"), dispuse după o simetrie cubică, fie sub forma unei mase nesegmentate, dispusă de-a lungul filamentului elicoidal al acidului nucleic.

Indiferent dacă structura particulei virale este cubică sau elicoidală, ea prezintă de obicei la exterior un înveliş pericapsidal, a cărui compoziţie chimică este lipido-glucido-proteinică şi este similară cu aceea a membranelor nucleară sau citoplasmică ale celulei în care s-a multiplicat virusul. Adeseori, acest înveliş pericapsidal conţine şi elemente proteice de origine virală, cum sînt structurile hemaglutinante, care posedă un caracter antigenic strict specific fiecărei specii de virus.

Elementele antigenice virale sînt deci constituite în principal de proteinele capsidei şi de proteinele învelişului pericapsidal; acizii nucleici virali — fie din cauza infecţiozităţii lor, fie din cauza potenţialului imunogen foarte scăzut — au o valoare antigenică deosebit de redusă.

Calităţile antigenice ale proteinelor virale au fost bine studiate în special la virusul mozaicului tutunului, primul virus purificat şi cristalizat (p. 73).

G. ANTIGENELE BACTERIENE

Numeroase substanţe sintetizate de celula bacteriană au calităţi antigenice sau heptenice; unele sînt toxice pentru macroorganism, iar altele sînt lipsite de nocivitate, dar avînd caracter de specificitate pot servi la determinarea genului sau tipului respectiv. Printre aceste substanţe, unele pot interfera cu anumite mijloace de apărare a organismului, cum este de exemplu blocarea procesului de fagocitoză, avînd ca urmare

ruperea echilibrului barierelor de apărare naturală faţă de invazia germenilor patogeni.

Toxinele bacteriene constituie o categorie de „antigene" de un deosebit interes practic şi reprezintă produse de metabolism ale unor anumite specii bacteriene; elaborarea în macroorganism a acestor toxine duce la tulburări grave şi chiar la moartea acestuia.

Dintre toate clasificările toxinelor bacteriene, cea mai raţională este aceea care le împarte în două mari categorii: cele secretate de germenii Gram-pozitivi şi cele ale Gram-negativilor, deoarece această clasificare coincide naturii lor chimice, prezentînd şi o concordanţă relativ satisfăcătoare cu „locul" de unde pot fi izolate, respectiv mediul de cultură pentru *exotoxine* şi corpul bacterian pentru *endotoxine*.

Toxinele secretate de bacteriile Gram-pozitive sînt în general exotoxine cu constituţie proteică, termolabile şi detoxifiabile prin formol, pe cînd cele ale bacteriilor Gram-negative sînt complexe macromoleculare constituite din fosfolipide, proteine şi polizaharide, termostabile şi nedetoxifiabile prin formol.

O altă deosebire între cele două tipuri de toxine o constituie acţiunea lor farmacologică, care la exotoxine diferă cu specia bacteriană, în timp ce toxinele Gram-negativilor au o acţiune farmacologică similară, în ciuda specificităţii imunologice diferită.

Un alt caracter distinctiv este şi faptul că neutralizarea cu seruri imune a exotoxinelor de bacterii Gram-pozitive se realizează de obicei complet şi în proporţii stoichiometrice, pe cînd la endotoxinele glucido-lipido-polipeptidice ale germenilor Gram-negativi neutralizarea cu serul imun este numai parţială.

1) TOXINELE BACTERIILOR GRAM-POZITIVE

În această grupă sînt cuprinse toxine foarte active, de tipul otrăvurilor (toxinele botulinică, tetanică, difterică etc.) şi de tipul enzimelor (lecitinaze, proteaze, coagulaze, hemolizine etc.).

Printre toxinele bacteriilor Gram-pozitive numai cîteva sînt constituite dintr-o singură substanţă nocivă pentru macroorganism (de ex., toxina bacilului difteric); majoritatea bacteriilor eliberează în mediu mai multe toxine.

Toxina difterică a fost prima obţinută în stare cristalină, iniţial de către Eaton şi Pappenhaimer; omogenă la ultracentrifugare, prin imunodifuziune, disocia totuşi cel puţin 14 componente distincte. Alt preparat cristalizat, obţinut de Poppe şi Stevens, prezenta o singură componentă şi un titru de 3 200 Lf/mg N, ceea ce pare să reprezinte plafonul maxim de purificare.

Toxinele streptococilor sînt foarte diverse (Alouf, 1966). Pe lîngă toxina scarlatinoasă, denumită şi eritrogenă sau toxina Dick (cristalizată de Konikov în 1957 şi de Mesrobeanu şi colab. în 1970), streptococii produc substanţe cu reactivitate antigenică distinctă, care atacă diverşi constituenţi ai sîngelui (hemolizine, leucocidine, fibrinolizine), substanţe care măresc permeabilitatea ţesuturilor (hialuronidaza), enzime proteolitice care atacă ţesuturile şi substanţe de natură endotoxică.

Scanned with OKEN Scanner

În afara toxinelor propriu-zise, la streptococi au fost identificate *poliozide haptenice*, localizate în peretele celular, *proteina M* (acido-alcoolo-rezistentă şi tripsino-sensibilă) specifică de tip, *proteina T* (acido-alcoolo-sensibilă şi tripsino-rezistentă) de asemenea specifică de tip şi *proteina R* (prezentă la anumite specii). *Streptolizina O* este o toxină citolitică, oxigen-labilă, prezentă la streptococii tip A şi se deosebeşte de *streptolizina S* care este oxigen-stabilă, neantigenică şi cu talie mică (G. M. 12 000).

Toxinele stafilococilor cuprind o diversitate de toxine, exotoxine şi alte substanţe antigenice. Dintre acestea, hemolizinele α şi β sînt specifice tulpinilor umane, celor bovine, iar δ este neantigenică şi apare în anumite condiţii de cultură (Bernheimer, 1970). S-au mai descris 3 leucocidine distincte, un grup de 5 enterotoxine (A...E) (Casman şi colab., 1967; Bergdol şi colab., 1971; Borja, 1972), o coagulează extracelulară, de tip proteic, conţinînd 17 aminoacizi (Soru, 1967), poliozide haptenice specifice de tip.

Printre **toxinele genului Clostridium** sînt de amintit:

Toxina tetanică, a cărei purificare a fost recent revizuită de către Van Heyningen (1971), este o proteină omogenă, cu conţinut ridicat în acid aspartic şi izoleucină.

Toxinele botulinice prezintă 6 antigene distincte, fiind produse de 5 tipuri de bacil botulinic. Toxinele tipurilor A şi B sînt producătoare de toxiinfecţii la om. Au molecule de talii diferite (70 000 — 1 000 000), în funcţie de condiţiile de pH şi de forţă ionică (Boroff, 1971).

Toxinele bacilului anthrax. Există 3 factori care acţionează împreună, dintre care I este serologic comun, iar II şi III sînt eterogeni; numai factorul III este antigenic şi poate fi folosit ca „antigen protector". Capsula bacilului cărbunelui posedă un polimer D-glutamic cu proprietăţi haptenice care precipită cu anticorpii ce intervin în reacţia Ascoli şi este serologic comun cu polipeptidul similar ce se poate obţine din *B. subtilis*. Bacilul anthrax deţine şi *poliozide haptenice somatice*, conţinînd lanţuri de acetil-glucozamină cu ramificaţii de galactoză.

Fracţiunile toxice şi antigenice ale bacilului tuberculos. Genul *Mycobacterium* posedă o serie de componente celulare, de natură lipidică, proteică şi polizaharidică, care se dovedesc din punct de vedere imunologic a fi de obicei haptene. Unele *tuberculoproteine*, ca tuberculina brută, care manifestă o acţiune toxică asupra organismelor sensibilizate, au şi putere imunogenă; altele, tot de natură proteică, cum este „tuberculina purificată", PPD („Purified Protein Derivatives"), au numai calităţi haptenice (Seibert şi colab., 1955). Polipeptidele de tip PPD deţin într-o anumită măsură specificitatea antigenică de specie, dînd rezultate bune în încercările de desensibilizare după infecţia cu tulpini omologe (Worthington şi Kleeberg, 1967).

Cu un amestec de ulei — detergent — apă se poate obţine, din corpii bacilari delipidaţi, un antigen cu structură complexă (proteină 38%, polizaharid 43%, lipid 8%), care nu este toxic, are capacitate vaccinantă şi nu dă intradermoreacţii încrucişate cu PPD (Păunescu şi colab., 1972).

Acidul micolic, care este prezent în ceara D (cu proprietăţi adjuvante), intră în constituţia aşa-numitului „cord factor", asociat cu virulenţa tulpinilor şi care a fost identificat din punct de vedere chimic ca trehalo-

Scanned with OKEN Scanner

zodimicolat. Acţiunea sa toxică a fost confirmată de numeroşi autori (Choucroun, 1947, 1967).

Spitznagel şi Dubos (1955) au descris o altă fracţiune ceroasă, denumită „fracţiunea a 7-a", care provoacă la cobai intradermoreacţie, fără sensibilizare alergică; inoculată intraperitoneal, duce la moartea animalului prin caşexie şi paralizie.

Poliozidele bacililor tuberculoşi se comportă ca haptene. Seibert (1949) a izolat din filtratele culturilor două asemenea substanţe: polizaharidul I, care conţine arabinoză şi manoză, şi polizaharidul II, care conţine glucoză, glucozamină şi un lipid. Alţi autori au descris şi o a III-a componentă polizaharidică, cu compoziţie chimică apropiată de primele două. Dintre aceste polizaharide, cea de tip II-Seibert, poate fi adsorbită pe globulele roşii şi serveşte ca „antigen" în reacţia de hemaglutinare indirectă Middlebrook-Dubos.

Antigenele pneumococilor. Pneumococii posedă o serie de factori de tipul haptenelor, printre care poliozidele capsulare ale variantelor *smooth*, specifice de tip şi asociate cu virulenţa germenului. Descoperite de Avery şi Goebel (1931, 1933), studiul lor a constituit una din pietrele fundamentale ale imunochimiei bacteriene. Actualmente, se recunosc aproximativ 70 de tipuri specifice. Primul studiat, tipul S-III, este un polimer de acid celobiuronic, un diozid constituit dintr-o moleculă de acid glucuronic legată de poziţia β pe carbonul 4 al glucozei şi cu greutate moleculară de 1 000 000.

Între diversele polizaharide pneumococice s-au obţinut reacţii serologice încrucişate. Astfel, de exemplu, tipul S-III precipită cu serul imun anti-S-VIII. Heidelberger şi Goebel au arătat că aceasta se datoreşte prezenţei comune a acidului celobiuronic, cu toate că tipul VIII are o constituţie mai complexă, posedînd şi molecule de glucoză şi galactoză.

Alt factor antigenic la pneumococi este *poliozidul C*, comun tuturor tipurilor de pneumococi şi constituit din glucozamină, galactozamină, glucoză şi uridin-difosfat. Se crede că acest nucleotid ar incita formarea „proteinei C reactivă", care, deşi nu este un anticorp, se găseşte în serul uman în cursul stărilor inflamatorii. A mai fost descris *poliozidul R*, localizat în peretele celular ca şi poliozidul C. Acesta pare să fie un antigen asemănător celor de tipul Forssman. De asemenea s-au descris o *proteină M*, specifică de tip şi localizată în peretele celular, şi o *nucleoproteină specifică de specie* legată de structurile celulare profunde.

2) ANTIGENELE O (ENDOTOXINELE TERMOSTABILE)

Endotoxinele sînt complexe macromoleculare localizate în peretele celulelor bacteriilor Gram-negative şi sînt constituite din fosfolipide, polizaharide şi proteine. Ele au fost descoperite de Boivin şi colab. (1933), prin deproteinizarea cu acid tricloracetic a variantelor „S"; astăzi există mai multe procedee fizico-chimice care permit obţinerea lor.

După tehnica folosită, se obţin preparate cu compoziţie chimică calitativ diferită şi, în unele cazuri, s-a ajuns la preparate practic lipsite de fracţiunea proteică, aşa-zisele lipopolizaharide (Westphal şi colab., 1952). Lipopolizaharidele păstrează totuşi o serie de calităţi biologice ale

endotoxinei originale glucido-lipido-polipeptidice : toxicitatea, specificitatea, pirogenitatea, termostabilitatea. De asemenea, s-au preparat şi endotoxine cu un conţinut minim de lipide, fără ca proprietăţile lor să fie alterate.

Rolul fracţiunii polizaharidice din endotoxine. Specificitatea serologică a endotoxinelor este localizată în fracţiunea polizaharidică. Westphal a arătat că, prin tratarea bacteriilor cu un amestec fenol — apă se pot obţine endotoxine şi din variantele R ale Gram-negativilor. Cercetînd compoziţia polizaharidelor de salmonele S sau R s-a constatat existenţa unui set invariabil de 5 zaharuri: D-glucozamină, o heptoză (L-glicero-D-manoheptoză), D-galactoză, D-glucoză şi 2-ceto-3-deoxioctonat. Acest set constituie aşa-zisul *chemotip I*, cel mai simplu, şi care nu coincide cu un serotip comun.

Cercetările lui Westphal şi Lüderitz au demonstrat că variantele R au toate chemotipul I, dar, din punct de vedere serologic, sînt divizate în două grupe.

La variantele S, pe baza zaharurilor care se supraadaugă setului de bază, se obţin 16 chemotipuri, dintre care unele realizează o concordanţă cu serotipul. Zaharurile care se supraadaugă la variantele S sînt : manoza, fucoza, riboza şi ramnoza, D-galactozamina şi o clasă nouă de zaharuri, pentru prima dată descoperite în natură în endotoxinele bacteriene de către Westphal, Lederer şi Staub : „3,6-didezoxihexozele" (abecvoză, colitoză, paratoză, tiveloză, ascarilozâ). Ascariloza a fost identificată de Davis în *Pasteurella pseudotuberculosis* tip IV, dar fusese semnalată mai înainte în glicoproteinele parazitului *Parascaris equorum*.

Recent s-a descris O-fosforil-etanolamina în lipopolizaharidele unor enterobacteriacee şi *Escherischia coli*. Se bănuieşte că ar fi legată de heptozofosfat prin legături fosfodiesterice.

Specificitatea nu este imprimată de către zaharul terminal al lanţului polizaharidic, ci de întreg oligozidul terminal, care, la *Salmonella* este de obicei reprezentat prin 3—4 zaharuri simple.

Specificitatea factorilor O rezidă deci în natura acestor zaharuri, în modul lor de legare ; atunci cînd are loc o mică schimbare la nivelul unuia dintre ei, cum ar fi acetilarea sau deacetilarea glucozei, datorită prezenţei sau deficienţei unei enzime speciale în celula bacteriană, are ca rezultat apariţia sau dispariţia unui factor serologic specific.

S-a observat că orice schimbare în mono- sau dizaharidul terminal induce o completă schimbare a specificităţii. De exemplu, acetilarea galactozei terminale în poliozidul de *Salmonella typhimurium* conduce la crearea factorului serologic 5 din schema Kaufmann-White. Schimbarea acetil-α-galactozei din factorul 10 în α-galactoză suprimă specificitatea şi creează un nou factor : 15. Dacă însă schimbările se efectuează în unităţile subterminale ale polizaharidului, atunci noul factor nu conduce la suprimarea celui existent, ci la o supraadăugare de un nou factor.

Rolul fracţiunii lipidice din endotoxine. Cercetările lui Westphal (1960) au arătat că în lipidul total există două fracţiuni : una care se hidrolizează rapid şi care a primit denumirea de fracţiunea B şi alta care se hidrolizează greu, fiind puternic legată de fracţiunea polizaharidică, şi care a fost denumită fracţiunea A (fig. 13). Acesteia din urmă, Westphal

Scanned with OKEN Scanner

i-a atribuit un rol proeminent în activitatea toxică şi în stimularea unora dintre reacţiile nespecifice ale endotoxinei. Alţi autori (Ribi şi Landy, 1961; Landy şi colab., 1965) au preparat endotoxine cu un foarte mic conţinut de lipide, fără ca efectul farmacologic sau antigenic să fie alterat; pe de altă parte, toate încercările biologice cu preparate de lipid A au arătat că acesta posedă mai puţin de 1% din activitatea endotoxinei originale. De aceea, lipidului A i se atribuie numai rol de adjuvant în stimularea nespecifică a fenomenelor biologice induse de endotoxină, iar activitatea toxică este pusă pe seama complexului poliozid-lipid.

Galanos şi colab. (1971) au demonstrat că, dacă lipidul A este inoculat într-o formă adecvată poate deveni imunogen. În acest scop, bacterii Gram-negative (salmonele, coli) tratate cu acid şi ulterior învelite cu lipid A pot stimula apariţia de anticorpi antilipid A, puşi în evidenţă prin hemoliză pasivă.

Rolul fracţiunii proteice a endotoxinei şi problema endotoxinelor termolabile. O serie de cercetători (Landy, 1960; Westphal şi colab., 1952; Staub şi Raynaud, 1960 etc.) au arătat că este posibil să se înlăture virtual întreaga proteină din complexul endotoxic fără ca activitatea sa biologică (nu însă şi puterea imunogenă) să fie diminuată. De aceea se consideră că fracţiunea proteică nu este esenţială în activitatea endotoxinei, iar lipopolizaharidul este o endotoxină purificată.

Deoarece lipopolizaharidele obţinute prin metoda Westphal au proprietăţi imunogene extrem de reduse, este logic să se atribuie calitatea imunogenă fracţiunii proteice sau lipoproteice din endotoxină.

Lipopolizaharidul are capacitatea de a creşte imunogenitatea unui antigen asociat (efect adjuvant), în special dacă antigenul asociat este cuplat covalent cu endotoxina (Schenck şi colab., 1969). Calităţile adjuvante ale lipopolizaharidului trebuie corelate cu proprietatea sa de a stimula transformarea şi proliferarea limfocitelor B, precursoare ale plasmocitelor (cap. 2).

Mesrobeanu şi colab. (1962) au arătat că se pot obţine dintr-o serie de bacterii Gram-negative substanţe de natură lipoproteică, toxice, antigenice, termolabile şi care dau reacţii încrucişate cu endotoxina glucido-lipido-proteică şi nu reacţionează cu fracţiunea lipopolizaharidică a acesteia. Aceste toxine au fost denumite „endotoxine termolabile" şi, datorită faptului că induc, uneori, la animale de experienţă, paralizii ale trenului posterior, au mai fost denumite şi *neurotoxine* sau *endotoxine termolabile*. Atît tehnica de extragere, cît şi multe proprietăţi ale acestor produse sînt similare cu cele ale neurotoxinei bacilului Shiga. Termenul de „neurotoxină" a fost dealtfel utilizat de către Vincent, în 1925, pentru desemnarea unei toxine termolabile, identificată la colibacili. Endotoxinele termolabile sînt detoxifiabile prin formol, precipitabile cu acizi şi în general foarte labile; ele au fost puse în evidenţă şi în urina bolnavilor cu infecţii datorite bacteriilor Gram-negative (coli, piocianic, proteus). Toxine proteice au mai fost descrise şi la alte bacterii Gram-negative. Astfel, Raynaud şi colab. (1964) din tulpina de *Salmonella typhi R* au extras cu soluţii hipertonice un complex toxic şi antigenic, neomogen, cu 6—10% N.

Izdebska (1965) obţine neurotoxine din *Proteus*, iar Szydlowski (1968), folosind aceeaşi tehnică, obţine din *S. sonnei* substanţe termolabile neurotoxice conţinînd 13% N, 15% lipide şi 3—4% substanţe reducătoare,

Scanned with OKEN Scanner

ceea ce corespunde cu compoziţia neurotoxinei raportată iniţial de Mesrobeanu şi colab. (1962). Prin tehnici variate, Chermann şi colab. (1967) obţin din *S. typhi* o substanţă proteică cu proprietăţi neurotoxice, pe care o consideră ca fiind eliberată din complexul endotoxic. Rezultate similare obţin Homma şi Suzuki (1966) la *Ps. pyocyanea*.

Există în prezent mai multe date care sugerează că neurotoxina este partea proteică a endotoxinei; nu este însă definitiv exclusă posibilitatea ca neurotoxina să reprezinte alte fracţiuni proteice celulare, necorelate cu endotoxina Boivin-Mesrobeanu (Mesrobeanu şi Mesrobeanu, 1971).

La vibrionul holeric, cercetările lui Grabar, reluate de Jenkin şi Rowley (1959) au pus în evidenţă proteine toxice; autorii au emis ipoteza că acestea ar deriva din endotoxina termostabilă.

Izolarea proteinei toxice a bacilului Shiga şi identificarea ei ca o componentă diferită de endotoxina termostabilă a fost realizată de Boivin şi Mesrobeanu în 1937, iar Van Heyningen în 1963 a obţinut-o în stare de înaltă puritate, arătînd că este tot atît de activă pentru animalele sensibile ca şi toxina botulinică şi tetanică (Mesrobeanu şi Mesrobeanu, 1971).

★

La *Salmonella* există o serie de antigene care au importanţă atît în relaţie cu fiziopatologia infecţiei provocată la macroorganisme, cît şi cu specificitatea serologică *.

H. ANTIGENE CELULARE ŞI TISULARE

Ţesuturile şi elementele lor componente, celulele, conţin multiple şi variate macromolecule cu structură proteică, polizaharidică, lipidică sau, cel mai adesea, complexă: glucidopeptidică, lipoproteică etc. Aceste numeroase feluri de complexe macromoleculare constituie în fapt tot atîtea tipuri de antigene, care, introduse într-un organism eterolog, induc formarea de anticorpi specifici.

Spre deosebire de *imunologia teoretică* şi de *imunochimie*, care de obicei recurg la analiza în profunzime, pînă la detalii de amănunt, a relaţiilor dintre un singur tip de antigen bine purificat şi anticorpii corespunzători sau macroorganismul receptor, *imunologia clinică* lucrează cu complexe de antigene, cum sînt cele ale agenţilor parazitari sau invadanţi, ale detritusurilor de ţesuturi şi organe etc. Izoaglutininele naturale sau dobîndite prezintă un interes deosebit pentru practica transfuziei, deci pentru practica medicală în general şi pentru chirurgie în particular; aceste aglutinine reprezintă anticorpi faţă de un complex de diferite antigene, care caracterizează din punct de vedere imunologic „grupele sanguine". Alte aglutinine faţă de un vast complex de antigene sînt cele care apar în serul indivizilor atinşi de o boală infecto-contagioasă; în aceste cazuri, reacţia dintre serul lor şi celula („antigenul complet") bacteriană, virală etc. permite identificarea bolii respective. Exemplele privind utili-

* Descrierea antigenelor Vi, M, K, L etc. poate fi găsită în „Imunologie şi imunopatologie", cap. 2, Edit. medicală, Bucureşti, 1965.

tatea *antigenelor complexe*, de tipul celor celulare, în imunologia practică în special, pot fi mult extinse. Antigenele celulare sînt larg folosite încă şi în prezent nu numai pentru uşurinţa cu care pot fi obţinute, dar şi pentru că adeseori dau rezultate mai fidele decît antigenele purificate, care pot suferi anumite degradări ale specificităţii imunologice, chiar în cursul operaţiunilor de purificare.

Diversitatea antigenelor celulare şi tisulare este deosebit de mare; aceasta se realizează în primul rînd prin micile variaţii, de la o specie la alta şi chiar de la un individ la altul, în ceea ce priveşte sinteza metabolică genetic coordonată a macromoleculelor celulare. Această varietate a căilor de sinteză asigură o diversitate de structură chimică, ceea ce — pe plan imunologic — se traduce printr-o gamă complexă a specificităţii antigenice a acestor macromolecule. Şi, după cum remarcă Landsteiner (1955), diversitatea structurii chimice se amplifică, sub aspect imunologic, prin existenţa a două sisteme ale specificităţii de specie în regnul animal: *specificitatea purtătorului antigenic* (polipeptidul) şi *specificitatea haptenei*.

1) ANTIGENELE HETEROFILE SAU ANTIGENELE FORSSMAN

În 1911, Forssman relata că inocularea de organe de cobai la iepuri duce la apariţia de hemolizine contra eritrocitelor de oaie; din punct de vedere imunologic, acest fapt exprimă capacitatea unor antigene existente în ţesuturile organelor de cobai de a induce apariţia unor anticorpi faţă de antigenele de la specii animale eterologe, ca cele existente în eritrocitele de oaie.

Studii ulterioare au identificat asemenea *antigene heterofile* în organele unui mare număr de specii animale diferite. Tomcsik şi colab. (1946—1948) au demonstrat, prin metoda adsorbţiei, că hemolizinele produse la iepure ca răspuns la administrarea de antigen Forssman (rinichi de cobai) nu sînt identice cu hemolizinele produse prin administrarea de eritrocite de oaie, acestea din urmă fiind un amestec complex de anticorpi, dintre care numai un singur tip este adsorbit de anticorpul heterofil Forssman. În schimb, există o mare asemănare între anticorpii heterofili şi hemolizinele antioaie naturale, care se găsesc printre L-izoaglutininele din serul uman sau de iepure: aceste hemolizine naturale, ca şi anticorpii heterofili, s-au dovedit active faţă de antigenele Forssman, ca şi faţă de substanţa solubilă de grup A sanguin. Alte cercetări au semnalat existenţa unor substanţe similare antigenelor Forssman şi la o serie de bacterii, ca bacilul dizenteric Shiga, unele salmonele, pneumococi etc.; întrucît multe dintre aceste specii bacteriene sînt prezente în mod normal sau patologic în macroorganisme, existenţa unor hemolizine antioaie „naturale" în serul uman sau în cel de iepure poate căpăta o altă explicaţie, originea lor putînd fi pusă şi pe seama prezenţei acestor microorganisme care conţin antigene de tip Forssman.

În acest sens, antigenele heterofile de tip Forssman, indiferent de originea lor, şi substanţa specifică de grup A sanguin sau cea din eritrocitele de oaie s-au dovedit a avea o grupare haptenică similară, care asigură reactivitatea lor imunologică comună.

Scanned with OKEN Scanner

Structura chimică a antigenului global variază de la o specie la alta şi chiar de la un organ la altul. Cercetări mai vechi au arătat că partea specifică a antigenului (haptena) este asociată cu un constituent lipidic tisular, prezent în fracţiunea „lecitinică", alcoolsolubilă. Extractele lipidice nu sînt antigenice, dar devin prin amestecare cu o proteină. Antigenul astfel format induce sinteza de anticorpi atît faţă de haptenă, cît şi faţă de proteina cu care a fost pusă în contact haptena (Landsteiner şi Simms, 1923).

Haptenele antigenelor heterofile au o structură lipomucopolizaharidică (Landsteiner, 1945). Componenta lor polizaharidică prezintă o compoziţie similară cu aceea a substanţei specifice grupului sanguin A, mucopolizaharid care prin hidroliză eliberează hexoze (D-galactoză, L-fucoză), N-acetil-D-galactozamină, N-acetil-D-glucozamină, acid sialic şi 15 aminoacizi. Substanţe cu structură similară mucopolizaharidică au fost izolate din mucoasa gastrică de porc, bou şi cal, ca şi din secreţiile (salivă, urină etc. a o serie de alte mamifere (Kabat, Morgan). Între haptenele specifice de grup sanguin A, B şi O, pe de o parte, şi o substanţă polizaharidică izolată de la pneumococii tip XIV, pe de altă parte, s-au demonstrat similitudini marcate atît în ceea ce priveşte reactivitatea lor imunologică, cît şi structura chimică : serurile imune de cal preparate cu aceşti pneumococi aglutinează celulele celor 4 grupe sanguine majore; iar cele trei substanţe specifice de grup conţin L-fucoză, D-galactoză şi N-acetil-D-glucozamină, în timp ce polizaharidul pneumococului tip XIV conţine D-galactoză şi D-glucozamină. Similitudinea biochimică dintre aceste substanţe poate fi încă sporită dacă substanţele specifice de grup sanguin sînt supuse unei slabe hidrolize, proces care îndepărtează L-fucoza şi face ca reactivitatea încrucişată cu polizaharidul pneumococic să se intensifice evident (Kabat, 1971).

În cazul bacilului *Shigella dysenteriae*, haptena antigenică de tip Forssman este asociată cu partea lipopolizaharidică a antigenului somatic. Această haptenă, inoculată singură la animalul de experienţă, nu este antigenică, dar poate deveni dacă este reunită cu partea proteică a antigenului. Această parte proteică a antigenului de *Sh. dysenteriae* poate fi dealtfel cuplată şi cu substanţa solubilă de grup A sanguin, antigenul rezultat stimulînd producţia de anticorpi heterofili în acelaşi sens în care acţionează şi antigenul complet de *Sh. dysenteriae*. Această cuplare, realizată iniţial *in vitro*, între proteina bacteriană şi haptena Forssman, a fost demonstrată, într-o manieră ceva mai deosebită, şi *in vivo*. Astfel, Holtman (1939) a putut demonstra formarea antigenului heterofil la unele specii bacteriene care obişnuit nu-l posedă, ca *Salmonella typhi* şi *Salmonella paratyphi B*, atunci cînd acestea sînt cultivate în serie în medii care conţin antigen Forssman (ser de cal) sau sînt cultivate în saci de colodiu implantaţi în cavitatea peritoneală a cobaiului (specie care posedă antigenul Forssman). Faptul că, în contact cu ţesuturile animale, bacteriile pot dobîndi antigenul Forssman, sugerează concepţia după care bacteriile care sînt cunoscute că deţin antigen Forssman, şi care în cea mai mare parte sînt specii parazite, au dobîndit acest antigen în cursul dezvoltării lor în ţesuturile gazdei.

Alte antigene heterofile care nu prezintă o specificitate înrudită cu aceea a antigenului Forssman au fost descrise de diferiţi autori. Astfel,

Scanned with OKEN Scanner

încă din 1926, Deicher a raportat că injecţia de ser de cal la om induce formarea de aglutinine atît antieritrocite de oaie (care conţin antigen Forssman), cît şi antieritrocite de iepure (care nu conţin antigen Forssman). Existenţa unor alte antigene heterofile, distincte de antigenul Forssman, a fost confirmată de Schiff (1937), care demonstrează inducerea de aglutinine antieritrocite de oaie la om chiar după inocularea de ser de iepure, care de asemenea nu conţine antigen Forssman. Aglutininele identificate de Schiff sînt dealtfel distincte serologic de cele induse de antigenul Forssman, ceea ce demonstrează că eritrocitele de oaie conţin cel puţin 2 antigene distincte : unele de tip Forssman propriu-zis (care au haptene comune cu antigenele Forssman de la cobai, cal, şoarece etc.) şi altele, tot heterofile, dar distincte de antigenul Forssman (care au haptene comune cu unele antigene din eritrocitele de iepure).

Alte antigene heterofile au mai fost identificate în lichidele de chist hidatic, în ţesuturile şoarecelui şi în alte organe provenite de la specii animale diverse.

2) ANTIGENELE SPECIFICE DE GRUP SANGUIN

Eritrocitele — umane sau animale — au o structură chimică deosebit de complexă, în a cărei compoziţie intră un mare număr de fragmente moleculare dotate cu reactivitate antigenică particulară. Cercetările întreprinse pentru studiul caracterelor de specificitate antigenică a acestor substanţe au condus la identificarea unui mare număr de tipuri eritrocitare antigenic diferite *.

3) ANTIGENELE DE TRANSPLANTARE

Reuşita tehnică a transplantelor de organ realizate în ultima decadă a fost în bună măsură contracarată de problema spinoasă a histocompatibilităţii : în cazurile de incompatibilitate, structurile celulare ale organului grefat constituie antigene pentru gazdă, care — prin răspunsul imun pe care îl dezvoltă — produc „eliminarea" grefei (cap. 7 şi 8). Cercetările în acest domeniu au dus la constatarea că antigenele de transplantare sînt markeri de suprafaţă ai celulelor alotipice (Kahan şi Reisfeld, 1969), care pot fi identificaţi, în cazul limfocitelor, printre structurile imunoglobulinice de la nivelul membranei acestora. Asemenea rezultate au permis utilizarea culturilor de limfocite alogenice în amestec (cap. 6) drept test pentru determinarea histocompatibilităţii între receptor şi donatorul de grefă.

Antigenele puternice de transplantare au putut fi localizate pe suprafaţa limfocitelor, printre structurile imunoglobulinice incluse în membrana acestor celule (cap. 2), cu ajutorul aloanticorpilor fluorescenţi, a metodelor de absorbţie serologică încrucişată şi a preparatelor purificate de membrane celulare. Determinanţii antigenici slabi de histocompatibilitate au fost identificaţi în fracţiunile citoplasmice microsomale

* În afară de grupele sanguine „clasice" O, A, B, descoperite în 1901 de către Landsteiner, şi de subgrupele respectiv (A_1, A_2, H etc.), au fost descrise alte antigene eritrocitare (Rh, P, sistemele MNS, Kell-Cellano, Lewis, Lutheran etc.). Descrierea acestor antigene, inclusiv structura lor chimică, este cuprinsă în cap. 2 al tratatului de „Imunologie şi imunopatologie", Edit. medicală, Bucureşti, 1965.

Scanned with OKEN Scanner

şi ribosomale (McKhann, 1964); aceşti determinanţi realizează eliminarea lentă (de tip cronic) a grefelor.

Antigenele celulare de transplantare constituie un *sistem alotipic*, adică un grup de determinanţi specifici polimorfi, distribuiţi printre membrii aceleiaşi specii. Repartiţia acestor determinanţi antigenici printre indivizii aceleiaşi specii este condiţionată genetic, iar genele de histocompatibilitate respective sînt considerate „puternice" sau „slabe" după cum eliminarea grefei are loc rapid (acut) sau lent (cronic) (Counce şi colab., 1956). La cele mai multe specii de mamifere există un singur locus puternic şi complex, denumit H—2 la şoarece, AB la şobolan, C—LA la cimpanzeu şi HL—A la om (Cepellini şi colab., 1967). La rîndul său, pe locusul principal s-au descris mai multe sublocusuri, fiecare urmînd calea mendeliană simplă de transmitere ereditară a factorilor alelici. Locusul puternic (H-a la şoarece) controlează eliminarea rapidă (în 14 zile) a grefei, în timp ce locusul slab (non-H-2) controlează diferitele tipuri de eliminare lentă a grefei: „cronică rapidă" (în 19—61 de zile), „cronică intermediară" (78—261 de zile) şi „cronică prelungită" (307—550 de zile).

4) ANTIGENELE SPECIFICE DE ORGAN

Diferenţele funcţionale dintre organe corespund unor diferenţe metabolice şi de sinteză biochimică care au o reflectare corespunzătoare din punctul de vedere al specificităţii imunologice. Datorită acestor condiţii, serurile imune realizate cu broiaje de diverse organe reacţionează imunologic diferit cu extractele altor organe (tabelul nr. 6).

Tabelul nr. 6

Titrurile fixării complementului în cazul reacţiilor dintre seruri imune de iepuri şi extracte antigenice de diferite organe de bou (după Landsteiner)

Extractul antigenic de organe de bou	Seruri imune de iepure anti:			
	trahee	timus	rinichi	spermă
Trahee	80	10 (±)	10 (±)	0
Timus	20	40	0	10 (±)
Rinichi	10 (±)	0	80	10 (±)
Spermă	0	0	0	40

Pentru studiul antigenelor specifice de organ au fost folosite în special extractele sau secreţiile unor organe (stomac, intestin, măduva spinării, rinichi, suprarenale, placentă, hipofiză, cristalin, leucocite, lapte, salivă) şi o serie de formaţiuni tumorale (Landsteiner, 1945). Mai multe asemenea antigene specifice de organ au fost identificate ca molecule mari, care pot fi sedimentate din extractele de organ la centrifugări cu viteze de peste 25 000 t/m; printre acestea, au fost descrise antigene caracteristice pentru măduvă, ficat, rinichi, plămîni, testicule şi muşchiul inimii de bou şi şoarece. Pressman şi colab. (1951—1953) au utilizat anticorpi marcaţi radioactiv pentru localizarea antigenelor specifice de organ la nivelul diferitelor ţesuturi şi celule; ei constată o localizare preferenţială a acestor antigene în zonele perivasculare ale organului respectiv.

O altă expresie a existenţei antigenelor specifice de organ o constituie efectul citotoxic al serurilor imune antiorgan; în acest sens, perfu-

zarea rinichiului cu ser antirinichi duce la instalarea unor leziuni grave de nefrită. Efectul citotoxic al anticorpilor antiorgan este incriminat în patogenia mai multor boli prin anticorpi (glomerulonefrite, tiroidită Hashimoto, hepatite, encefalomielite, anemie mielitică etc.)., (cap. 12—16).

În aceeaşi ordine de idei trebuie amintite procesele de *sensibilizare de organ*, care duc la localizarea unor afecţiuni cu predilecţie în organul sensibilizat. În acest sens, unele cercetări de tuberculoză experimentală constituie un exemplu evident. Astfel, după cum se ştie, la cobai, tuberculoza ocoleşte rinichiul; dacă însă, înainte de infecţie, animalul este imunizat cu extracte de rinichi, anticorpii specifici de organ care se formează alterează ţesutul renal şi permite localizarea ulterioară a infecţiei tuberculoase în acest organ.

BIBLIOGRAFIE

Alouf J., Méd. et Hyg., 1966, *24*, 172.
Avery O. T., Goebel W. F., J. exp. Med., 1931, *54*, 437; 1933, *58*, 731.
Avery O. T., Mac Leod C. M., McCarty M., J. exp. Med., 1944, *79*, 137.
Barbu E., Panigel J., Ann. Inst. Pasteur, 1961, *100*, 725.
Bergdoll M. S., Borja C. R., Robbins R. N., Weiss K. F., Infect. Immun., 1971, *4*, 593.
Bernheimer A. W., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1970, vol. I, p. 183.
Boivin A., Mesrobeanu L., Rev. Immunol., 1935, *1*, 553.
Boivin A., Mesrobeanu I., Mesrobeanu L., C.R. Soc. Biol., 1933, *113*, 490.
Borja R. C., Fanning E., Huang I. Y., Bergdoll M. S., J. Biol. Chem., 1972, *247*, 2 456.
Boroff D. A., Das Gupta B. R., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1971, vol. IIA, p. 1.
Boyd W. C., *Fundamentals in Immunology*, Interscience Publ., New York, 1965.
Boyd W. C., Boyd L. G., J. Immunol., 1937, *33*, 159.
Boyd W. C., Shapleigh E., J. Immunol., 1954, *73*, 226; Blood, 1954, *9*, 1 195.
Burnet M. F., *Immunological surveillance*, Pergamon Press, Oxford — Londra — New York — Toronto — Sydney, 1970.
Casman E. P., Bennett R. W., Dorsey A. E., Issa J. A., J. Bact., 1967, *94*, 1 875.
Ceppellini R., Curtoni E. S., Mattiuz P. L., Miggiano V., Scudeller G., Serra A., în *Histocompatibility testing*, Munksgaard Publ., Copenhaga, 1967, p. 149.
Chermann J. C., Raynaud M., Digeon M., Ann. Inst. Pasteur, 1967, *113*, 375.
Choucroun N., Science, 1947, *105*, 46; Amer. Rev. Tuberc., 1947, *56*, 203; Tubercle, 1967, *48*, 237.
Counce S., Smith P., Barth R., Snell G. D., Amer. Surg., 1956, *144*, 198.
Eaton M. D., J. Bacteriol., 1936, *31*, 367; Bacteriol. Rev., 1938, *2*, 3.
Francis T. Jr., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1934, *31*, 493.
Galanos Ch., Lüderitz O., Westphal O., Eur. J. Biochem., 1971, *24*, 116.
Gell P. G. H., Wolstencroft R. A., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 21.
Goebel W. F., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1962, *48*, 214; J. exp. Med., 1936, *64*, 29; 1938. *68*, 469; 1940, *72*, 33.
Goebel W. F., Barry G. T., J. exp. Med., 1958, *107*, 185.
Goebel W. F., Binkley F., Perlman E., J. exp. Med., 1945, *81*, 315.
Griffith F., J. Hyg., 1928, *27*, 113.
Hamaoka T., Takatsu K., Kitagawa M., Immunology, 1971, *21*, 259.
Haurowitz F., Z. physiol. chem., 1936, *245*, 23; J. Immunol., 1942, *43*, 331; 1950, *51*, 509; Brit. J. exp. Path., 1952, *33*, 98.
Heidelberger M., *Lectures in Immunochemistry*, Acad. Press, New York, 1956.
Homma J. Y., Suzuki N., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, *133*, 508.
Holborow E. J., Loewig, Immunology, 1962, *5*, 278; Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 72.
Ispolatovskaya M. V., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1971, vol. IIA, p. 109.
Izdebska K., Acta Microbiol. Polon., 1965, *14*, 41.
Jenkin C. R., Rowley D., J. Gen. Microbiol., 1959, *21*, 191.
Kabat E. A., Mayer M. M., *Experimental Immunochemistry*, Ch. C. Thomas Publ., Springfield, Ill., 1971.
Kahan B. D., Reisfeld R. A., Science, 1969, *164*, 514.
Landsteiner K., Wien klin. Wochschr., 1901, *14*, 1 132; *The specificity of serological reactions*, Harvard Univ. Press, Cambridge, 1945.

Scanned with OKEN Scanner

LANDSTEINER K., LEVINE P., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1927, *24*, 600, 941; J. exp. Med., 1928, *47*, 757 şi *48*, 731.
LANDSTEINER K., SCHEER J. V. D., J. Immunol., 1924, *9*, 213; J. exp. Med., 1932, *55*, 781; 1938, *67*, 709.
LANDSTEINER K., WIENER A. S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1940, *43*, 223.
LANDY M. A., JOHNSON A. G., WEBSTER M. E., SAGIN J. F., J. Immunol., 1965, *74*, 466.
LAWRENCE H. S., *Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states*, Hoebner Publ. House, New York, 1959.
LIN K. H., WU H., CHEN T. T., Chinese J. Physiol., 1928, *2*, 131.
LÜDERITZ O., WESTPHAL O., STAUB A. M., NIKAIDO H., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1971, vol. IV, p. 145.
MÄKELÄ O., CROSS A. M., Progr. Allergy, 1970, *14*, 145.
MARRACK J. R., *The Chemistry of Antigen and Antibodies*, Mes. Res. Council Brit. Spec. Rep. Ser., 1938, *230*; *Immunochemistry*, Cambridge Univ. Press, Oxford, 1953.
MAURER P. H., MANSMANN H. C., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958, *99*, 378.
McINTIRE F. C., J. Immunol., 1962, *102*, 1 411.
McKHANN C. F., Transplantation, 1964, *2*, 620.
MESROBEANU I., MESROBEANU L., GEORGESCU M., DRĂGHICI D., ALAMITA E., IEREMIA T., Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 1962, *21*, 19.
MESROBEANU L., MARX A., Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 1964, *23*, 555.
MESROBEANU L., MESROBEANU I., în *Microbial toxins*, vol. IIA, Acad. Press, New York — Londra, 1971, p. 301.
MESROBEANU L., MESROBEANU I., MITRICĂ N., Arch. roum. Path. exp. Microbiol., 1961, *20*, 399; 1962, *21*, 31, 703; 1964, *23*, 229; Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, *133*, 685.
MITCHISON N. A., Europ. J. Immunol., 1971, *1*, 10, 18, 68; Immunopathology, 1967, *6*, 52.
MORGAN W. T. J., Nature, 1943, *152*, 82.
MORGAN W. T. J., WATKINS W. M., Brit. J. exp. Pathol., 1948, *29*, 159; Brit. Med. Bull., 1959, *15*, 109.
NUTTALL G. H. T., *Blood Immunity and Blood Relationship*, Cambridge Univ. Press, 1904.
OBERMAYER F., PICK E. P., Wien klin. Wochschr., 1904, *17*, 265.
PAPPENHEIMER A. M., ENDERS J. F., Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1933, *31*, 37.
PĂUNESCU E., MUŞĂŢEANU R., ZAHARESCU C., STOINESCU M., *XIX-e Internationale tuberculose conferentiae*, Amsterdam, 3—7 oct. 1967, Pergamon Press, 1969, p. 74.
PĂUNESCU E., MUŞĂŢEANU R., ZAHARESCU C., STOINESCU M., DĂNĂLACHE M., PISICA GH., Probl. de tuberculoză, 1972, *XI*, 147.
POPE C. G., STEVENS M. F., Brit. J. exp. Pathol., 1951, *32*, 246; Lancet, 1953, *II*, 1 190.
RAJEWSKI K., în *Current topics in immunology*, sub red. GRUNDSMANN E., Springer Verlag, Berlin, 1969, p. 81.
RAJEWSKI K., SCHIRRMACHER V., NASE S., JERNE N. K., J. exp. Med., 1969, *129*, 1 130.
RAYNAUD M., DIGEON M., NAUCIEL C., în *Bacterial Endotoxins*, sub red. M. LANDY şi W. BRAUN, Inst. Microbiol. Rurgers, New Jersey, 1964, p. 326.
RIBI E., HASKINS W. T., LANDY M., MILLER K. C., J. exp. Med., 1961, *114*, 647.
ROBBIND P. W., WRIGHT A., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1971, vol. IV, p. 351.
SEIBERT F. B., Amer. Rev. Tuberc., 1949, *59*, 86.
SEIBERT F. B., FIGUEROA E. S., DUFOUR E. H., Amer. Rev. Tuberc., 1955, *71*, 704.
SOMEYA S., HAYASHI O., YAMAMURA Y., Amer. Rev. Resp. Dis., 1962, *86*, 542.
SORU E., Biochem., 1967, *103*, 1 123.
SPITZNEGEL W., DUBOS R. J., J. exp. Med., 1952, *47*, 239.
STANLEY J. L., SMITH H., J. Gen. Microb., 1963, *31*, 329.
STAUB A. M., RAYNAUD J., Ann. Inst. Pasteur, 1960, *98*, 831.
STAUB A. M., WESTPHAL O., Bull. Soc. Chim. Biol., 1964, *46*, 1 647.
SZYDLOWSKI S., Arch. Immunol. Therap. Exp., 1968, *16*, 57.
TAYLOR R. B., DUFFUS W. P. H., RAFF M. C., DE PETRIS S., Nature New Biol., 1971, *233*, 221.
TAYLOR R. B., IVERSON G. M., Proc. Roy. Soc. Lond. (B), 1971, *176*, 393.
VAN HEYNINGEN W. E., MELLENBY J., în *Microbial toxins*, Acad. Press, New York, 1971, vol. IIA, p. 69.
VAN HEYNINGEN W. E., GLADSTONE G. P., Brit. J. exp. Pathol., 1953, *34*, 202.
WESTPHAL O., Ann. Inst. Pasteur, 1960, *98*, 789.
WESTPHAL O., LÜDERITZ O., BISTER F., Zeit. Naturforsch., 1952, *76*, 148.
WORTHINGTON R. W., KLEEBERG H. H., Tubercle, 1967, *48*, 211.
WILSON G. S., MILES A. A., *Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity*, Arnold Publ., Londra, 1955, vol. I, p. 299.

Scanned with OKEN Scanner

4. STRUCTURA ŞI FUNCŢIA IMUNOGLOBULINELOR

VICTOR GHEŢIE

A. CLASIFICAREA ŞI NOMENCLATURA IMUNOGLOBULINELOR

Imunoglobulinele (Ig) sînt globuline serice care migrează electroforetic cu fracţiunile α, β sau, mai des, γ. Ca urmare a unui stimul antigenic, cantitatea de Ig în serul sanguin creşte, iar Ig astfel produse posedă calitatea de „anticorpi", putînd reacţiona *in vivo* şi *in vitro* cu antigenul care le-a indus apariţia (cap. 5 şi 6). În unele sindroame tumorale ale liniei limfoide (mieloame, limfoame, plasmocitoame), cantitatea de Ig serice poate, de asemenea, să crească foarte mult (cap. 16), fără ca Ig produse să manifeste calităţi de anticorpi. Toate Ig au proprietăţi fizice şi chimice comune, diferenţiindu-se însă în privinţa proprietăţilor biologice.

La om se cunosc cinci clase de Ig : IgG, IgA, IgM, IgD şi IgE.

Ig sînt proteine policatenare rezultate din combinarea a două lanţuri polipeptidice cu greutate moleculară şi secvenţă a aminoacizilor diferite : lanţul greu (*heavy*) sau H (cu greutate moleculară mare) şi lanţul uşor (*light*) sau L (cu greutate moleculară mică). Cele cinci clase de Ig se deosebesc în primul rînd printr-o secvenţă diferită a lanţului H, simbolizate cu literele greceşti echivalente celor care desemnează clasa : lanţ γ pentru IgG, μ pentru IgM, α pentru IgA, δ pentru IgD şi ε pentru IgE.

Există două *tipuri* diferite de lanţuri L, tipul lambda (λ) şi tipul kappa (κ); într-o moleculă de Ig nu există însă niciodată ambele tipuri de lanţuri. Ig sînt formate, de obicei, din două perechi de lanţuri H şi L, asociate în ordinea L—H—H—L prin legături disulfidice. În timp ce molecula de IgG este formată doar dintr-o singură unitate (κ)λ — γ — — γ — λ (κ), în molecula de IgM această unitate se repetă de cinci ori (tabelul nr. 7).

În funcţie de structura lanţurilor H şi L, Ig se împart în *clase* şi *subclase* (definite de structura lanţului H), în *tipuri* şi *subtipuri* (definite de structura lanţului L) şi în *grupe* şi *subgrupe* (definite de structura regiunilor variabile din lanţurile H şi L)*).

Atît lanţurile H, cît şi cele L au în structura lor două feluri de regiuni : unele *variabile* (*V*) şi altele *constante* (*C*) în privinţa secvenţei aminoacizilor ce le compun. Rezultă că lanţurile L se pot scrie şi sub forma $V_\kappa C_\kappa$ sau $V_\lambda C_\lambda$, iar lanţurile H se pot scrie $V_H C_H$ sau $V_H C_H 1 C_H 2 C_H 3$, întrucît partea constantă a lanţului H conţine trei regiuni distincte.

*) *Recomandation for the nomenclature of human imunoglobulins*, Biochemistry, 1972 *11*, 3.311.

Tabelul nr. 7

Caracteristici structurale și cîteva proprietăți imunochimice ale Ig umane

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Lanț greu					
Clasa	γ	α	μ	δ	ε
Subclasa	$\gamma1$, $\gamma2$, $\gamma3$, $\gamma4$	$\alpha1$, $\alpha2$	$\mu1$, $\mu2$	—	—
Greutatea moleculară ($\times 10^4$)	4,9—5,1	5,0 ($\alpha1$) 4,6 ($\alpha2$)	5,6—6,0	5,4—5,9	5,8—6,3
Lanț ușor					
Tip	$\varkappa$, λ	$\varkappa$, λ	$\varkappa$, λ	$\varkappa$, λ	$\varkappa$, λ
Greutatea moleculară ($\times 10^4$)	2,2—2,3	2,2—2,3	2,2—2,3	2,2—2,3	2,2—2,3
Imunoglobuline					
Formula moleculară	$\varkappa_2\gamma_2$ $\lambda_2\gamma_2$	$(\varkappa_2\alpha_2)_n$ $(\lambda_2\alpha_2)_n$ $n = 1,2,3,...$	$(\varkappa_2\mu_2)_5$ $(\lambda_2\mu_2)_5$	$\varkappa_2\delta_2$ $\lambda_2\delta_2$	$\varkappa_2\varepsilon_2$ $\lambda_2\varepsilon_2$
$S^0_{20,w}$	6,7	7, 11, 13	18—20	6,6	7,9
Greutatea moleculară ($\times 10^5$)	1,5	1,6 3,8	9—10	1,7—1,8	1,9
Glucide (%)	2,9	7,5	7,7—10,7	12,0	10,7—12,1
Concentrația în ser (mg/100 ml)	800—1 680 (1 045)	140—420 (169)	50—190 (89)	3—40	0,01—0,04
Nr. situsurilor de combinare (valența)	2	2	5 sau 10	—	—

Structura lanțurilor H definește *clasa* de Ig: G, A, M, D sau E. Deosebirile de secvență și de dimensiuni între lanțurile H definesc *subclasele* de Ig; de ex. au fost identificate patru subclase de IgG, notate IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4, cu lanțurile grele $\gamma1$, $\gamma2$, $\gamma3$ și $\gamma4$.

Lanțurile L aparținînd *tipurilor* $\varkappa$ sau λ prezintă și ele variații de secvență în regiunea constantă, ceea ce a obligat clasificarea lor în *subtipuri* de lanț kappa, respectiv de lanț lambda.

Grupele de Ig, definite de regiunile variabile ale lanțurilor ($V_\varkappa$, V_λ sau V_H), pot de asemenea să prezinte deosebiri de secvență, rezultînd *subgrupe*; spre exemplu, $V_\varkappa$ prezintă subgrupele $V_{\varkappa I}$, $V_{\varkappa II}$ și $V_{\varkappa III}$ (subgrupa este notată prin cifre romane).

Ținînd seama de criteriile de clasificare menționate, molecula de IgG ($\varkappa$) aparținînd subgrupei I poate fi transcrisă prin următoarea formulă: $[(V_{\varkappa I}, C_\varkappa)\ (V_{\gamma1}C_{\gamma1}1C_{\gamma1}2C_{\gamma1}3)]_2$.

B. ETEROGENITATEA IMUNOGLOBULINELOR

Clasificarea laborioasă a Ig este expresia neobișnuitei eterogenități a acestor proteine.

După cum s-a remarcat, o primă cauză a eterogenității Ig o constituie *specificitatea izotipică*, determinată de existența claselor, subclaselor, tipurilor etc. amintite.

Ig prezintă însă şi o *specificitate alotipică*, definiă de secvenţa aminoacizilor în regiunile constante ale lanţurilor L şi H. Această eterogenitate a Ig este determinată genetic. Astfel, pentru un grup de indivizi, în regiunea C_L există o variaţie a aminoacidului din poziţia 191; valina pentru indivizii din grupul Inv (3) şi leucina pentru cei din grupul Inv (1).În lanţul H există, de asemenea, poziţii care sînt variabile pentru diferite grupuri de indivizi, pînă în prezent fiind identificate 25 de variante din specificitatea alotipică Gm localizată în lanţul gamma.

A treia cauză de eterogenitate a Ig o constituie *specificitatea* lor *idiotipică* care este caracteristică pentru un *singur* fel de anticorp obţinut de la un *singur* individ dintr-o specie dată. Specificitatea idiotipică este determinată de o particularitate structurală a situsului de combinare sau a unei regiuni imediat adiacente, caracteristică pentru fiecare individ. Astfel, serul cobailor imunizaţi cu anticorpi antipneumococ, obţinuţi de la un singur iepure, reacţionează numai cu aceştia, dar nu şi cu anticorpii antipneumococ de la alţi iepuri.

Un alt factor care determină eterogenitatea Ig rezidă în capacitatea celulelor formatoare de Ig de a sintetiza fiecare Ig proprii, specifice. Capacitatea de a sintetiza partea constantă este identică la toate celulele, fiind codificată de o genă stabilă *C*, în timp ce partea variabilă este codificată de o genă multiplă *V* care poate suferi mutaţii fie în timpul evoluţiei, în cursul multor generaţii de indivizi cu selecţia mutanţilor, fie prin diferenţierea somatică şi selecţie în timpul vieţii individului. Indiferent de calea de mutaţie se ajunge la rezultatul că fiecare celulă sau grup limitat de celule sintetizează lanţuri cu V_L şi V_H diferit.

C. DESCRIEREA CLASELOR DE IMUNOGLOBULINE

1) **Imunoglobulina G (IgG).** Această clasă reprezintă 70—80% din Ig serice la om. Are G. M. 140 000 — 150 000 (om, iepure şi şoarece); la păsări, G. M. a IgG este mai mare (170 000). Lanţurile L şi H sînt unite printr-o singură legătură disulfidică (ca la toate clasele de Ig), dar numărul de legături disulfidice între cele două lanţuri H variază la om în funcţie de subclasa respectivă *) (fig. 14). La iepure, Ig are o singură legătură disulfidică între lanţurile grele (tabelele nr. 8 şi 9).

Anticorpii de tip IgG apar mai ales în timpul răspunsului imun secundar. Ei pot exercita o acţiune de inhibare asupra sintezei anticorpilor IgM dezvoltaţi în cursul răspunsului primar, printr-un mecanism de competiţie pentru antigen (cap. 5 şi 9).

2) **Imunoglobulina A (IgA)** se găseşte în serul uman sub două forme: monomeră şi dimeră. Forma monomeră are o constantă de sedimentare 7 S, fiind alcătuită din două lanţuri uşoare (lambda sau kappa) şi două lanţuri grele (alfa), ultimele unite între ele printr-un număr încă nedeterminat de legături disulfidice. Forma dimeră are o constantă de sedimentare 10 S şi este alcătuită din două unităţi monomere, unite între ele prin punţi disulfidice mediate de lanţul polipeptidic J (de la *joining*

*) *Notation for human immunoglobulins*, Bull. W.H.O., 1966, *35*, 953.

= legare) (Halpern şi Kosland, 1970). Lanţul J se caracterizează printr-o greutate moleculară de 20 000 şi are 10 —12 resturi de cisteină în moleculă.

Sînt bine caracterizate pînă în prezent două subclase de IgA: IgA1, reprezentînd 93% din întreaga cantitate de IgA serică, şi IgA2 în care lanţurile uşoare sînt dimerizate prin legături disulfidice şi unite de lanţurile grele prin punţi de hidrogen (fig. 15).

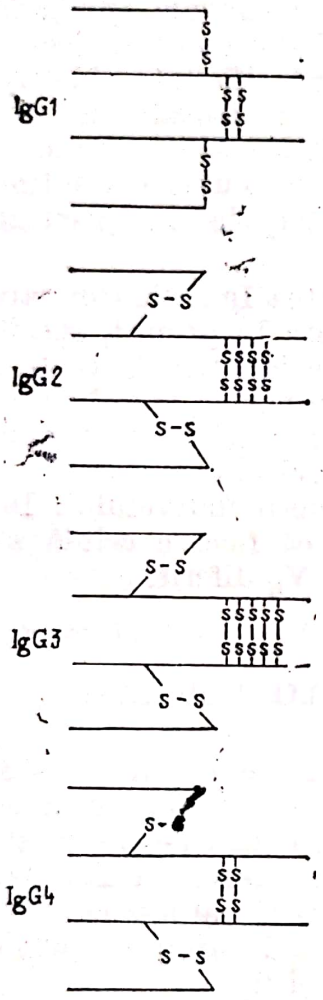


Fig. 14.— Structura schematică a subclaselor de IgG umane (după Nezlin, 1972).

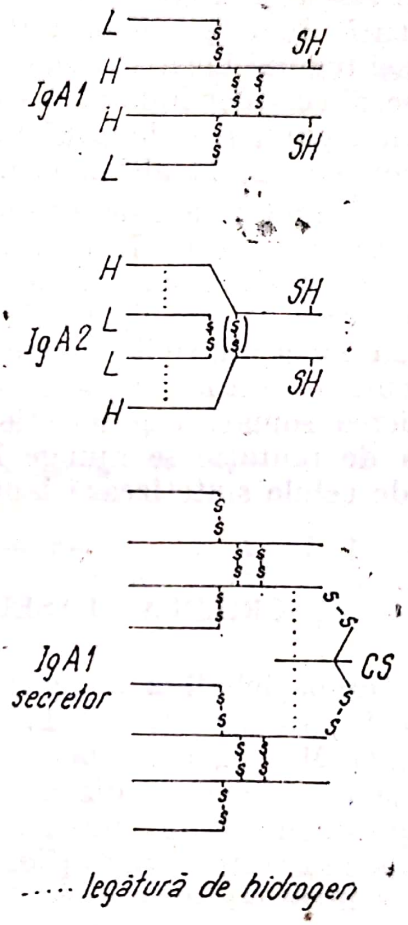


Fig. 15. — Structura subclaselor de IgA şi IgA secretor (după Nezlin, 1972).

În secreţii, la multe specii, a fost identificată IgA de tip secretor care se găseşte sub formă dimerică (11 S). Ea conţine un component în plus faţă de IgA serică dimer (pe lîngă lanţul J), numit component secretor (component S) (Tomasi şi Grey, 1972). Acesta are, la om, G.M. de 58 000 şi cea mai mare parte a lui pare a fi legată de regiunea Fc a moleculei prin legături disulfidice. La iepure, componentul S are G. M. 25 000 şi pare legat prin intermediul legăturilor de hidrogen. Componentul S se sintetizează în celulele epiteliale ale glandelor care secretă IgA şi se

Tabelul nr. 8

Proprietăţile biologice ale Ig

Proprietăţi	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Distribuţia între spaţiul extravascular şi sînge (% intravascular)	45—52	40—42	76—78	75	51
Timpul de înjumătăţire ($T^{1}/_{2}$) (zile)	18—23	5,1	5,0—6,5	2,8	2,4
Rata catabolizării (fracţiunea din Ig intravascular catabolizată zilnic, %)	4,6—6,9	25,2	11,0—18,7	37	72
Rata sintezei (mg/kg corp/zi)	25—34	4,5—6,9	24—30	0,4	0,002
Fixarea complementului	+	—	+	(?)	—
Trecerea peste bariera placentară	+	—	—	(?)	—

Tabelul nr. 9

Cîteva proprietăţi ale clasei IgG umane

Proprietăţi	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Procentul relativ	70	18	9	3
Greutatea moleculară a lanţului greu ($\times 10^4$)	5	5	7	5
Numărul grupărilor disulfidice(γ—γ)	2	4	5	2
Viteza electroforetică	lent	lent	lent	rapid
Fixarea complementului	+	+	+	—
Sensibilizarea pielii	+	—	+	+
Eliberarea fragmentelor după acţiunea papainei	Fab, Fc, Fc'	Fab Fc (lent)	Fab	Fab Fc (rapid)

ataşează de IgA dimer, probabil în timpul secreţiei. G. M. a IgA secretor este cuprinsă între 380 000 şi 400 000. În lapte sînt prezente ambele subclase de IgA, iar IgA2 reprezintă 25% din total. Este remarcabilă capacitatea componentului S de a stabiliza molecula de IgA2 dimer care, în absenţa componentului S, disociază spontan în lanţurile L şi α în medii denaturate, din cauza lipsei legăturilor disulfidice dintre aceste lanţuri (Jerry şi colab., 1972).

IgA secretoare apare mai rezistentă la acţiunea enzimelor proteolitice din cauza componentului S. Acţiunea protectoare a componentului S a fost demonstrată prin scăderea rezistenţei IgA secretoare (umane şi

Scanned with OKEN Scanner

de iepure) la acţiunea enzimelor proteolitice, în urma îndepărtării gradate a componentului secretor din molecula lor (Gheţie şi Moţa, 1973; Stewart, 1971). Datorită componentului S, IgA secretoare poate să-şi îndeplinească funcţiile biologice de apărare locală a mucoaselor în medii în care prezenţa enzimelor proteolitice este frecventă.

Anticorpii de tip IgA secretoare apar în secreţii în urma administrării locale a antigenului. Prezenţa anticorpilor IgA la aceste nivele s-a corelat bine, în unele cazuri, cu rezistenţa la reinfecţie. Anticorpii de tip IgA secretoare par a fi mai puţin specifici, fiind capabili să reacţioneze pe o scară mai largă şi cu antigene înrudite cu cel folosit la imunizare (Tomasi şi Cebra, 1971), pe cînd anticorpii de tip IgG nu reacţionează decît cu antigenul corespondent. Datele biologice asupra imunităţii locale şi caracterizarea chimică a IgA au permis introducerea concepţiei de sistem imunologic secretor (care asigură imunitatea locală), în alternativă la sistemul imunologic umoral care asigură imunitatea sistemică.

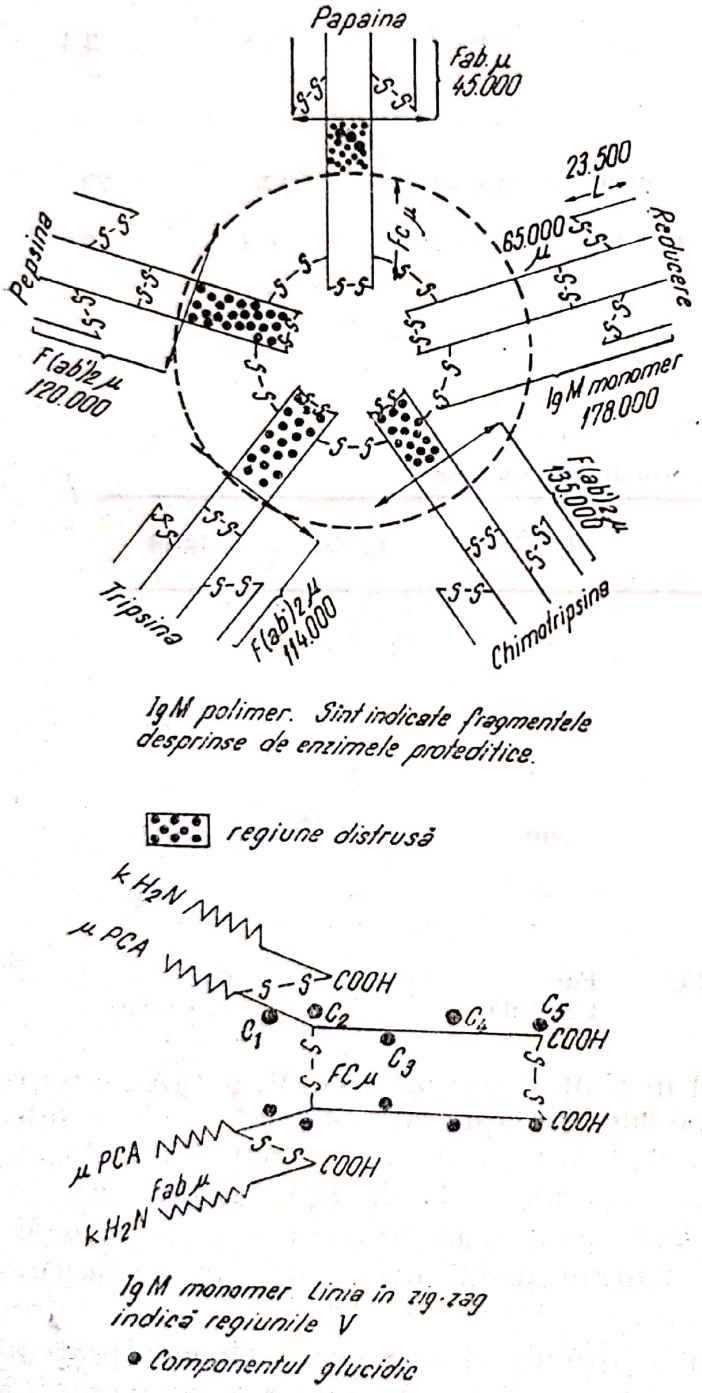


Fig. 16. — Structura schematică a IgM monomer şi polimer (după Nezlin, 1972).

3. **Imunoglobulina M (IgM)** este imunoglobulina cea mai răspîndită. Se caracterizează printr-o greutate moleculară mare (850 000) (19 S) şi un conţinut ridicat de glucide. Prin reducere uşoară se disociază în cinci unităţi identice, cu o greutate moleculară ceva mai mare decît a IgG. Structura IgM monomeră este asemănătoare cu cea a IgG, cu diferenţa că între lanţurile μ nu există decît două legături disulfidice, una dintre ele fiind plasată la capătul C-terminal al lanţului (fig. 16).

Monomerii de IgM sînt legaţi între ei prin legături disulfidice plasate de asemenea spre capătul C-terminal al lanţului μ. La legarea polimerilor participă şi lanţul

polipeptidic J care a fost găsit în IgM polimer (un lanţ J/pentamer), nu şi în IgM monomeră (Mestecky şi colab., 1971).

Anticorpii de tip IgM apar predominant în cursul răspunsului primar, rata sintezei lor fiind controlabilă prin nivelul IgG (cap. 5).

4) **Imunoglobulina D (IgD)** (Rowe şi colab., 1969). Datele principale despre această Ig au fost prezentate în tabelele 7 şi 8. De curînd s-a putut arăta că IgD prezintă o activitate de anticorp, dar rolul său specific rămîne încă obscur. O creştere semnificativă de IgD s-a înregistrat în serul gravidelor, dar numai în timpul travaliului, valoarea sa anteşi postpartum fiind normală.

5) **Imunoglobulina E (IgE)** (Ishizaka, 1967; Johansson şi colab., 1968). Anticorpii care aparţin la clasa IgE corespund celor denumiţi „reagine" (anticorpi reaginici) şi, mai recent, anticorpi homocitotropi, adică anticorpi care au proprietatea de a se ataşa ferm de unele celule (în special de mastocite) provenite de la *aceeaşi* specie *).

Anticorpii de tip IgE sînt responsabili pentru hipersensibilitatea imediată de tip anafilactic la diferite specii (om, maimuţă, iepure, şobolan, cîine). Anticorpii IgE umani se fixează în piele la efectuarea testului Prausnitz-Küstner (cap. 7). S-a arătat că doza minimă de IgE capabilă să declanşeze anafilaxia cutanată pasivă este de aproape 10 ori mai mică decît cea de IgG.

Structura IgE care asigură sensibilizarea (fixarea pe celule) este prezentă în porţiunea Fc a moleculei, fiind termolabilă (inactivare completă într-o oră la 56°C) şi inactivabilă prin agenţi reducători. Nu se ştie dacă aceştia din urmă acţionează asupra unor legături disulfidice intersau intralanţ ε.

Nivelul IgE se măsoară prin dozarea radioimunologică, fiind de ordinul a cîteva sute de nanograme/ml (tabelul nr. 7). Pacienţii cu boala fînului, astm exogen, eczemă atopică au concentraţii de IgE semnificativ ridicate. Au fost observate nivele foarte ridicate de IgE în unele boli parazitare provocate de *Ascaris*, *Toxocara*, *Echinococus* etc. (cap. 5 şi 7).

Este de reţinut că anticorpii reaginici aparţin atît clasei IgE, cît şi clasei IgG (prezentă în ser în cantităţi notabile, la şobolan şi cobai) (Tomasi şi Cebra, 1971). Cu anticorpi din ambele clase se pot induce fenomene de hipersensibilitate (cap. 7), administrarea pasivă de IgG la iepure fiind inhibitoare pentru producerea IgE, în timp ce IgM stimulează formarea de anticorpi IgE.

6) **Subunităţi de imunoglobuline.** Asemenea proteine pot fi identificate în urina şi serul unor bolnavi suferind de afecţiuni limfoproliferative. Ele sînt alcătuite numai din lanţuri uşoare (proteine Bence-Jones) sau din fragmente de lanţuri grele (boala lanţurilor grele). Apariţia lor este rezultatul sintezei predominante a lanţurilor uşoare sau a unui lanţ greu incomplet; în nici un caz ele nu reprezintă produşi de degradare reductivă sau enzimatică a unei molecule de Ig complet sintetizată.

Proteinele Bence-Jones se găsesc în urina bolnavilor de mielom sau macroglobulinemie patologică, uneori în cantităţi mari, sub formă de

*) S-au observat că anticorpii de tip IgE uman sînt capabili să se fixeze şi de mastocite de la alte specii (maimuţă, şobolan), de aceea utilizarea termenului de anticorpi homocitotropi nu se mai recomandă (Johansson şi Ovary, 1971).

Scanned with OKEN Scanner

lanţuri L dimerizate, unite prin legături disulfidice. Au proprietatea de a precipita prin încălzire la 60°C şi apoi de a se redizolva la o temperatură de 80—90°C. Pe această proprietate se bazează şi identificarea lor în urină.

Alături de proteinele Bence-Jones, la bolnavi de mielom se constată uneori prezenţa, în serul sanguin, în cantităţi neobişnuite de ridicate a uneia din clasele IgG, IgA, IgD sau IgE; în macroglobulinemia Waldenström este prezentă IgM. S-au semnalat însă numeroase cazuri de mielom la care prezenţa proteinelor Bence-Jones nu este asociată cu un nivel mai ridicat al Ig în sînge.

Caracteristica esenţială a proteinelor mielomatoase, ca şi a celor Bence-Jones este aceea că ele sînt proteine omogene, fiind sintetizate de celule plasmatice care provin din malignizarea unei singure clone. Din această cauză, proteinele mielomatoase au fost denumite şi *Ig monoclonale*, iar bolile care le determină *gammopatii monoclonale*. Frecvenţa cu care apar gammopatiile monoclonale într-o populaţie dată reflectă procentul fiecărei clase de Ig în serul unui individ normal din această populaţie. De aceea, frecvenţa tipurilor de gammopatii monoclonale scade în ordinea IgG, IgA, IgM, IgD şi IgE.

S-au identificat două tipuri de proteine Bence-Jones, kappa şi lambda, cu o structură chimică, proprietăţi fizico-chimice şi antigenice distincte. În urina sau în sîngele bolnavilor suferind de o gammopatie monoclonală se întîlnesc proteine Bence-Jones fie de tipul kappa fie de tipul lambda, spre deosebire de cazurile normale la care lanţurile L din urină (prezente în cantităţi foarte mici) aparţin la ambele tipuri.

Lanţuri grele patologice (Franklin, 1971). Au fost descrise cazuri de limfoame maligne şi mieloame multiple în care în urina sau sîngele bolnavilor au fost identificate fragmente de lanţuri grele aparţinînd la clasele gamma, alfa şi miu.

Fragmentele de lanţuri gamma au o structură particulară, din molecula lor lipsind integral regiunea C_H1. Greutatea lor moleculară este, de aceea, de aproximativ 40 000 în loc de 52 000. Această structură a permis să se presupună că, la asemenea cazuri, sinteza lanţului greu începe normal, dar este urmată de o importantă deleţie (corespunzătoare regiunii C_H1) şi este apoi reluată normal de la începutul fragmenului Fc.

Deoarece boala lanţurilor gamma este asociată cu abolirea sintezei de lanţ L, legătura disulfidică situată în mod normal între H şi L se stabileşte între cele două fragmente de lanţ gamma.

S-a pus în evidenţă şi o boală a lanţului alfa la pacienţi cu limfom malign interesînd intestinul subţire (IgA este sintetizată de celulele plasmatice ce căptuşesc tractul intestinal.) Fragmentele de lanţuri alfa sînt şi ele discontinue, fiind lipsite de regiunile implicate în formarea legăturii disulfidice H—L.

Fragmente de lanţ miu au fost observate numai în serul unor pacienţi cu leucemie limfatică cronică, fiind asociate, surprinzător, şi cu sinteza lanţului uşor (proteina Bence-Jones). Studiile de secvenţă au arătat că aceste fragmente de lanţ miu ar putea fi lipsite de restul de cisteină ce se găseşte în C_H1 şi care asigură legarea lanţului uşor. S-ar explica astfel sinteza concomitentă de lanţuri miu şi kappa neasamblate într-o moleculă normală de IgM.

Scanned with OKEN Scanner

D. STRUCTURA CHIMICĂ A IMUNOGLOBULINELOR

Analiza structurii Ig poate fi realizată pe două căi principale : scindarea moleculei cu ajutorul enzimelor proteolitice sau a bromcianului şi disocierea lanţurilor polipeptidice cu ajutorul unor agenţi reducători, care rup legăturile disulfidice ce leagă lanţurile între ele. Combinarea metodelor de scindare enzimatică cu cele de reducere chimică îngăduie obţinerea unor fragmente de moleculă a căror structură primară (secvenţa aminoacizilor) şi conformaţie (aranjarea spaţială a catenelor polipeptidice) pot fi determinate mai uşor.

1) DISOCIEREA MOLECULEI ÎN FRAGMENTE

Fragmente obţinute prin scindare enzimatică sau chimică. Prin scindare enzimatică (cu papaină, pepsină sau alte enzime proteolitice) sau chimică (bromcian : BrCN) a Ig s-au obţinut două tipuri de fragmente : Fab şi Fc. Tratamentele enzimatic şi chimic atacă legături peptidice care se află într-o regiune a lanţului H cu o structură mai aparte, denumită regiune „balama", ce uneşte zona N-terminală a lanţului H implicat în fragmentul Fab (fragmentul Fd) de cea C-terminală (fragmentul Fc).

Fragmentele conservă o parte din proprietăţile biologice şi fizicochimice ale moleculei intacte şi de aceea pot fi utilizate ca material pentru studierea detaliată a Ig. Proprietăţile antigenice ale fragmentelor însumează pe cele ale moleculei iniţiale, capacitatea de legare a antigenului este conservată în fragmentul Fab, iar fixarea complementului şi fixarea de ţesuturi se păstrează în fragmentul Fc. Asemenea fragmente apar în mod normal în organism ca rezultat al acţiunii catepsinelor asupra moleculei de Ig (Gheţie şi Mihăescu, 1973; Waldman şi Gheţie, 1971). Degradarea IgG are loc şi printr-o conservare îndelungată la frigider (Škvařil şi Radl, 1967). În preparatele de Ig se menţin urme de plasmină şi catepsine care sînt capabile, într-un interval larg de pH (5 — 8), să producă degradarea Ig la fel ca şi prin tratarea cu papaină, tripsină sau pepsină.

Există, totuşi, o diferenţă de dimensiuni între fragmentele Fab obţinute cu papaină, pepsină sau bromcian, deoarece aceşti agenţi au locuri de acţiune diferite. Faţă de fragmentul Fab papainic, monovalent, fragmentul peptic F $(ab')_2$ este mai lung şi conservă legătura disulfidică dintre lanţurile grele fiind, de aceea, bivalent. Fragmentul obţinut cu BrCN —F $(ab'')_2$ este cel mai lung şi de asemenea bivalent.

Fragmentul Fab, considerat rezistent la acţiuni enzimatice ulterioare, a putut fi recent scindat în jumătăţi ce cuprind partea V_L şi V_H (Hochman şi colab., 1973) şi partea C_L şi C_H (Medgyesi, 1973). Fragmentul Fab obţinut din IgG mielomatoase a putut fi cristalizat (Poljak şi colab., 1972).

Partea C-terminală a Ig prezintă o susceptibilitate mult mai mare la acţiunea enzimelor decît partea N-terminală. Cele patru subclase de IgG umană se deosebesc prin susceptibilitatea diferită a regiunii C-terminale la acţiunea enzimelor (tabelul nr. 9).

Scanned with OKEN Scanner

Subunităţi şi lanţuri obţinute prin reducerea legăturilor disulfidice. În molecula Ig sînt prezente trei categorii de legături disulfidice: *1*) legături disulfidice interlanţ care asigură structura cuaternară a moleculei (există legături disulfidice între lanţurile L şi H şi între cele două lanţuri H; legături disulfidice între două lanţuri L există numai în cazul subclasei IgA2 şi a proteinelor Bence-Jones, care sînt lanţuri L dimerizate); *2*) legături disulfidice interlanţ care asigură structura polimerică a IgA şi IgM (aceste legături se stabilesc între lanţurile H ce aparţin la doi sau mai mulţi monomeri; ele sînt mult mai labile decît cele ce unesc lanţurile); *3*) legături disulfidice intralanţ care asigură structura terţiară a lanţurilor (în lanţul L există două astfel de punţi disulfidice, iar în lanţul H cel puţin patru punţi). Aranjamentul periodic al punţilor disulfidice, ca şi asemănările din secvenţa aminoacizilor cuprinşi în aceste regiuni (omologia regiunilor) a permis împărţirea moleculei de IgG în *domenii* notate V_L şi C_L pentru lanţul L şi V_H, C_H1, C_H2 şi C_H3 pentru lanţul H. Este uşor de observat că fiecare din aceste domenii conţine cîte o singură punte disulfidică (fig. 17).

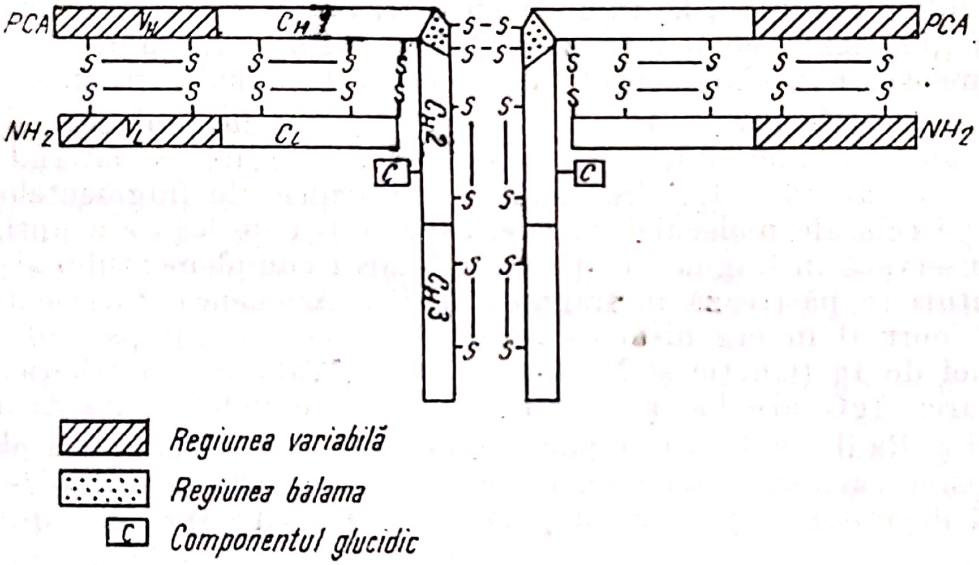


Fig. 17. — Legăturile disulfidice din molecula de IgG umană (după Edelman, 1970)

Reducerea legăturilor disulfidice interlanţ din Ig, cu agenţi reducători ca 2-mercaptoetanol sau ditiotreitol duce la eliberarea lanţurilor grele şi uşoare; reducerea fragmentelor de tip Fab permite separarea lanţurilor uşoare de porţiunea N-terminală a lanţurilor grele (fragmente Fd).

2) STRUCTURA PRIMARĂ

a) **Structura lanţului uşor (L)** (Putnam, 1969). Cele două tipuri de lanţ L (kappa şi lambda), la om, iepure, şoarece, sînt prezente într-o proporţie de 70 %, respectiv 30 % în IgG umană. Într-o singură moleculă de IgG există numai lanţuri lambda sau kappa, care au proprietăţi anti-

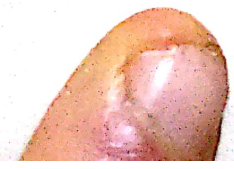
genice distincte, nerealizînd reacţii încrucişate. Lanţul kappa are un număr de 214 aminoacizi, dintre care în primii 107 — 112 ($V_\varkappa$) s-au înregistrat variaţii importante în secvenţa aminoacizilor, 73 de poziţii prezentînd diferenţe de la pacient la pacient. În cealaltă jumătate ($C_\varkappa$) nu se înregistrează decît variaţii legate de alotipul Inv din poziţia 191. Capătul C-terminal al lanţului L (aminoacidul din poziţia 214) este cisteina, care este implicată în puntea disulfidică intercatenară cu cisteina din poziţia 220 din lanţul greu (la IgG1). Această parte constantă are o secvenţă a aminoacizilor foarte asemănătoare la om şi şoarece, 62 % din poziţii fiind ocupate de aminoacizi identici.

Lanţul lambda are un număr variabil de aminoacizi (213 —216), iar cisteina care asigură legătura cu lanţul H nu ocupă capătul C-terminal al moleculei, ci poziţia penultimă. Capătul N-terminal al unor lanţuri lambda este blocat, fiind constituit din acidul pirolidoncarboxilic (PCA) (anhidridă ciclică a acidului glutamic). În rest, lanţul lambda prezintă aceleaşi caracteristici structurale ca şi lanţul kappa (V_λ, C_λ) cu deosebire că în regiunea variabilă s-au găsit un număr mai mic de poziţii (50) cu aminoacizi ce variază de la un individ la altul. În regiunea C_λ există variaţii în aminoacizii din poziţia 154 (Kern) şi 191 (Oz) care se găsesc la toţi indivizii, exprimînd o duplicaţie de genă (izotip) (Hess şi Hilschmann, 1971). De aceea, markerul Oz a fost considerat greşit un timp ca marker alotipic ; el este de fapt un marker izotipic. Deci, regiunea C_λ a lanţurilor lambda din Ig umane se caracterizează prin trei variante izotipice codificate de trei gene diferite : $C_{\lambda 1}$ ($Kern^-Oz^-$), $C_{\lambda 2}$ ($Kern^-Oz^+$) şi $C_{\lambda 3}$ ($Kern^+Oz^-$).

b) **Structura lanţului greu (H)** (Edelman şi Gall, 1969). Cele patru punţi disulfidice delimitează şi în lanţul H regiuni caracteristice notate V_H, C_H1, C_H2 şi C_H3. Fragmentul Fd este alcătuit *grosso modo* din regiunile V_H C_H1, iar fragmentul Fc din C_H2 şi C_H3. În regiunea V_H sînt indicaţii că ar exista o variaţie mai mare decît în V_L. Între C_H1 şi C_L s-a găsit că 30 % dintre poziţii sînt ocupate de aminoacizii identici. Omologii (asemănări de structură) şi mai semnificative s-au găsit între C_H1, C_H2 şi C_H3, deşi ultima are o conformaţie diferită de a celorlalte regiuni de omologie. Sînt indicaţii că situsul responsabil pentru sensibilizarea pielii este localizat în C_H3.

c) **Particularităţi structurale în regiunea variabilă.** Dacă se analizează cauzele variabilităţii aminoacizilor în regiunea V_L şi V_H prin prisma codului genetic se constată că 75 % din substituiri se explică prin schimbarea unei singure baze de triplet, 25 % prin schimbarea a două baze şi mai puţin de 1 % prin schimbarea întregului triplet. Această comportare arată că variabilitatea secvenţei rezultă în urma unei mutaţii punctiforme (*point mutation*).

În regiunea variabilă se observă atît poziţii în care nu se înregistrează nici o schimbare de aminoacid, de la un pacient la altul, cît şi poziţii care rareori sînt ocupate de aceiaşi aminoacizi. Primele poziţii constituie aşa-numitele puncte invariante şi asigură, probabil, o conformaţie asemănătoare la toate regiunile V. Poziţiile în care se înregistrează o hipervariabilitate, aşa-numitele poziţii „fierbinţi" au fost identificate, în lanţul kappa uman, între amino-acizii 25 — 35, 52 — 55 şi 89 — 96 (Wu şi Kabat, 1970). În lanţul H s-a observat o variabilitate excesivă între aminoacizii 31 —37, 86 —91 şi 101 —109 (Kehoe şi Capra, 1971). Deoarece ultimele



zone de hipervariabilitate se găsesc în jurul restului de cisteină ce participă la formarea buclei disulfidice din regiunea V, este posibil ca în molecula de IgG aceste două zone să fie alăturate şi să constituie situsul de combinare.

Prin compararea secvenţelor regiunii variabile a lanţurilor kappa sau lambda la diferiţi indivizi s-a ajuns la împărţirea grupului $V_\varkappa$ în 3 subgrupe ($V_{\varkappa I}$, $V_{\varkappa II}$, $V_{\varkappa III}$). Tot pe acest criteriu s-a împărţit şi grupul V_λ în 4—5 subgrupe, iar pentru V_H s-au evidenţiat 4 subgrupe.

Analiza secvenţelor de aminoacizi cuprinşi în regiunile V şi C a arătat că regiunile V_H şi V_L sînt omologe, dar diferă de C_H şi C_L. Între V_H şi V_L din aceeaşi moleculă există asemănări mai mari decît între V_H şi V_L din diferite molecule. Cele trei regiuni de omologie C_H1, C_H2 şi C_H3 sînt foarte asemănătoare nu numai între ele, ci şi cu C_L. Regiunea „balama" care conţine toate legăturile disulfidice interlanţ este plasată în mijlocul lanţului H şi secvenţa sa este distinctă. Aceste fapte susţin ipoteza că lanţurile Ig au evoluat dintr-o genă precursoare, codificînd un lanţ de aproximativ 100 de aminoacizi. Cum între V şi C nu există o omologie semnificativă este posibil ca iniţial să fi existat două gene precursoare (pentru V şi C) care s-au unit ca urmare a avantajului selectiv de a-şi combina funcţiile într-o singură clasă polipeptidică.

3) COMPONENTUL GLUCIDIC

Glucidele intră într-o proporţie variabilă în compoziţia tuturor Ig; de aceea aceste proteine pot fi considerate ca glicoproteine.

Componentul glucidic este eterogen (Niedermeyer şi colab., 1971; Spiegelberg şi colab., 1970), fiind compus în principal din hexoze (galactoză, manoză), N-acetilglucozamină, fucoză şi acid sialic. Oligozaharidul astfel format se leagă covalent de lanţul peptidic prin intermediul legăturii N-glucozidice care se stabileşte între asparagină şi N-acetilglucozamină. Componentul glucidic este localizat în special în regiunea constantă a lanţului greu, şi anume în Fc. În Fab se găseşte un oligozaharid mult mai mic, localizat fie în fragmentul Fd, fie în lanţul L, fie în ambele subunităţi.

În lanţul gamma de om şi iepure există doi componenţi glucidici, unul cu dimensiuni mai mari prezent în regiunea Fc iar celălalt mai mic ataşat de regiunea balama. La IgGIx (Eu), componentul glucidic este plasat în regiunea $C_{\gamma 1}$ 2, fiind legat de restul de acid aspartic din poziţia 297. Oligozaharidul este plasat tot în regiunea $C_\gamma 2$ şi la IgG de iepure, iar oligozaharidul mic este legat de treonină, în regiunea balama, în cazul alotipului d12. Este posibil ca acest oligozaharid mic să aibă o distribuţie asimetrică, fiind legat numai de unul din cele două lanţuri gamma.

În lanţul μ al IgM (Ou) au fost detectate cinci oligozaharide: unul în poziţia 170 (în Fd), al doilea în jurul poziţiei 230 (în regiunea „balama"), iar celelalte trei în Fc (Putnam şi colab., 1971).

Ataşarea componentului glucidic de Ig se realizează atît în timpul biosintezei lanţurilor, cît şi în cursul transportului moleculei ansamblate prin aparatul Golgi (cap. 2).

Scanned with OKEN Scanner

E. CONFORMAȚIA IMUNOGLOBULINELOR

1) FORMA ȘI DIMENSIUNILE MOLECULEI

Molecula Ig este elipsoidală (coeficientul fricțional al moleculei de IgG este 1,5, cel al IgM este 2, iar cel al moleculelor tipice globulare este cel mult 1,25).

Dimensiunile moleculei de IgG, determinate prin dispersia razelor X, pot fi înscrise într-un cilindru elipsoidal cu dimensiunile de 237 — 240 × 19 × 57 Å. Această valoare a fost confirmată și prin microscopie electronică, fiind găsite dimensiuni de 250 — 270 Å pentru axa lungă a cilindrului și de 35 — 40 Å pentru cea scurtă. Aceste rezultate au acreditat, pentru un timp, concepția că molecula de IgG are o formă cvasicilindrică.

În realitate, molecula de IgG nu este compactă, ci este alcătuită din trei regiuni distincte (două Fab și una Fc), unite printr-un scurt lanț polipeptidic elastic (regiunea balama). Analiza cu raze X a unor molecule IgG cristalizate de care s-au legat atomi grei (Hg, Pt) (Davies și colab., 1971) a arătat că în moleculă există trei regiuni globulare așezate, după toate probabilitățile, în formă de T.

Molecula de anticorp implicată într-un complex imun are o formă în Y, brațele alcătuite din fragmentele Fab putînd avea unghiuri diferite. Analiza electronooptică a unor complexe formate din anticorpi de iepure (IgG) anti-DNP (dinitrofenol) și o haptenă cu două grupuri DNP a pus în evidență figuri poligonale cu 3 — 4 sau mai multe colțuri (fig. 18) (Valentine și Green, 1967). Date similare au fost obținute și pentru IgM. Aceasta apare formată dintr-un inel central din care pornesc, de cele mai multe ori, cinci brațe în formă de Y.

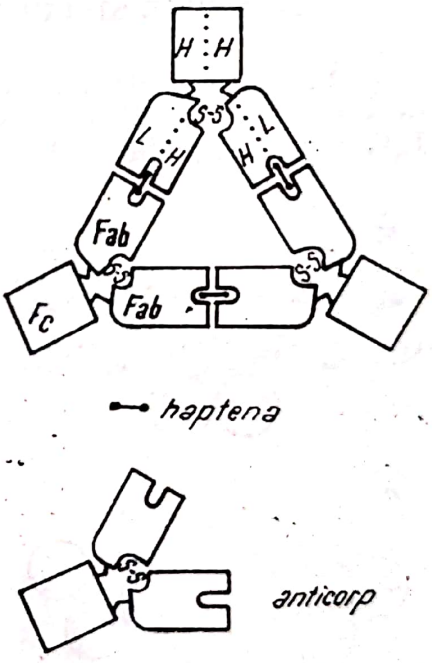


Fig. 18. — Schema trimerului de IgG anticorp unit prin haptena bis-DNP (după Valentine și Green 1967).

2) STRUCTURA SECUNDARĂ ȘI TERȚIARĂ

Prin măsurători fizico-chimice (dispersia rotatorie optică, dicroism circular, spectroscopia în infraroșu, depolarizarea fluorescenței etc.) s-a ajuns la concluzia că în molecula IgG nu există structuri alfa spiralate. Absența structurii alfa-helix permite moleculei de IgG o mai mare flexibilitate ce pare asigurată de aranjarea lanțurilor polipeptidice într-o structură de tip beta mai puțin ordonată.

Structura terțiară a lanțurilor L și H este determinată, în primul rînd, de aranjarea periodică a celor două, respectiv patru bucle disulfidice în aceste polipeptide. Se formează astfel un fel de pseudounități

structurale (domenii) care au o structură compactă, fiind unite strîns între ele prin legături peptidice scurte. IgG poate fi disociată în domeniile care o compun prin proteoliza limitată a lanţurilor, ceea ce arată că între domenii există miniregiuni balama, la fel de sensibile la acţiunea enzimelor proteolitice ca şi regiunea balama propriu-zisă.

În regiunea Fc a moleculei de IgG se pot induce tranzaţii de conformaţii prin scăderea pH-ului sub 4 (Abaturov şi colab.,1969; Gheţie şi Buzilă, 1972). Ca rezultat al acestor modificări, fragmentul Fc dobîndeşte o susceptibilitate crescută la acţiunea enzimelor proteolitice (papaină) care îl degradează pînă la peptide. Tranzaţia conformaţională nu se produce în Fab, care rămîne nemodificat, chiar scăzînd pH-ul la 2. Demascarea unor zone în Fc, apte de a fi atacate de papaină, dovedeşte că se produc deplieri ale lanţului polipeptidic în ciuda faptului că buclele disulfidice ale domeniilor se menţin aparent intacte. Concomitent se constată că distanţa dintre regiunile Fab şi Fc creşte cu 20 %. Această comportare sugerează posibilitatea unei deplasări de poziţie între domenii şi o oarecare labilitate a structurii lor terţiare. Rezultă că molecula de IgG are o flexibilitate care nu se limitează numai la regiunea balama, ci poate să se manifeste şi între domenii sau poate chiar în interiorul unui domeniu.

3) MODELE STRUCTURALE (STRUCTURA CUATERNARĂ)

Structura tetrapolipeptidică a IgG de iepure a fost demonstrată de Porter (1962). Ulterior s-au făcut cîteva încercări de a figura structura IgG sau a lanţurilor sale în modele spaţiale conforme cu datele existente asupra dimensiunii, formei şi flexibilităţii moleculei; aceste modele rămîn însă doar reprezentări aproximative fiindcă pînă în prezent nu s-au obţinut detalii roentgenografice concludente asupra structurii tridimensionale a moleculei.

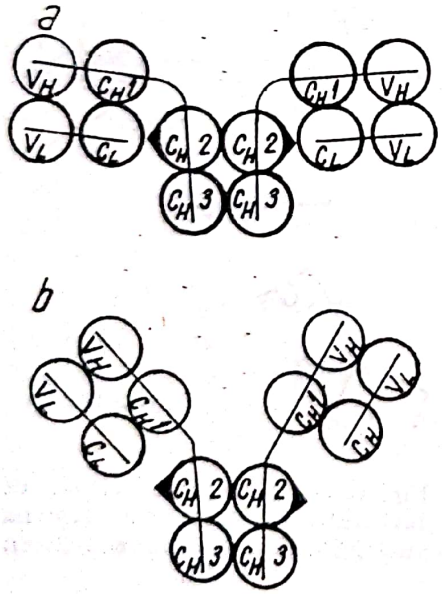


Fig. 19. — Modificarea structurii anticorpilor IgG în urma reacţiei cu antigenul (după Edelman, 1970). *a* — în absenţa antigenului (forma T); *b* — în prezenţa antigenului (forma Y), cu demascarea situsului de fixare (▲), complementului

Determinarea secvenţei complete şi plasarea exactă a legăturilor disulfidice în molecula de IgG1 (Eu) a permis evidenţierea unui aranjament în domenii al lanţurilor polipeptidice H şi L (ipoteza domeniilor) (Cunningham şi colab., 1971; Edelman, 1970).

Fiecare domeniu cuprinde o legătură disulfidică, este compus din aproximativ 100 de aminoacizi şi are o greutate moleculară de 12 000. Aşezarea în formă de T a domeniilor presupune o pliere a catenei polipeptidice ce aparţine regiunii balama şi o posibilă interacţiune între domeniile C_L şi C_H2. Dacă în urma interacţiunii cu antigenul cele două domenii se îndepărtează, molecula luînd forma de Y, s-ar putea ca în C_H2 să se evidenţieze tocmai situsul de fixare a complementului (mascat în molecula nereacţionată

prin interacţiunea cu C_L). O figurare schematică a acestei posibilităţi este redată în figura 19. Rezultă că domeniile C pot oferi situsuri pentru funcţiile efectoare ale IgG (C_H2 fixare de complement şi C_H3 fixare pe celule etc.), în timp ce situsurile din domeniile V determină funcţia de recunoaştere a antigenului.

F. SITUSUL DE COMBINARE AL ANTICORPILOR

1) LOCALIZAREA INTERCATENARĂ

Situsul de combinare al anticorpilor este localizat în fragmentul Fab care este alcătuit, după cum s-a mai arătat, din lanţul L şi fragmentul Fd. Prin digestia enzimatică a fragmentului Fab în condiţii speciale se poate izola un fragment care are jumătate din dimensiunea originală şi se compune din părţile V_H şi V_L (Hochman şi colab., 1973; Medgyesi, 1973). Acest fragment (V_L — V_H) păstrează cea mai mare parte din activitatea de anticorp a moleculei intacte.

Contribuţia relativă a celor două părţi V_L şi V_H la alcătuirea situsului de combinare a fost mult timp discutată (Gheţie, 1969). În prezent se ştie cu siguranţă că ambele părţi V_L şi V_H alcătuiesc situsul de legare, însă nu este încă precizată măsura cantitativă a contribuţiei lor. Se pare însă că ele nu au o participare egală, ci partea V_H este cu predominanţă implicată în fixarea antigenului. Prin izolarea lanţurilor L şi H, afinitatea lor pentru antigen scade, dar îşi păstrează intactă specificitatea, ceea ce arată că specificitatea este o proprietate legată de structura lanţurilor şi nu un mod particular de asamblare a lor.

Deşi mult redusă afinitatea lanţului H pentru antigen este totuşi considerabil mai mare decît aceea a lanţului L. De aceea, mulţi autori nu au putut înregistra decît activitatea lui H şi au considerat greşit, că lanţul L nu contribuie la alcătuirea situsului de combinare. Cu toate acestea, adăugarea lanţului L la lanţul H produce întotdeauna creşterea activităţii imunologice a acestuia din urmă, care poate atinge valoarea iniţială. Recombinarea lanţurilor ascultă de anumite reguli. Astfel, pentru recăpătarea maximă a activităţii moleculei refăcute, lanţul L trebuie să derive de la acelaşi individ şi din anticorpi cu aceeaşi specificitate. Prezenţa antigenului (haptenei) facilitează recombinarea preferenţială a lanţurilor L şi H investite cu aceeaşi specificitate; în absenţa haptenei lanţurile H se combină în aceeaşi măsură cu lanţul L, fie că aceasta provine din IgG nespecifică sau din anticorpii antihaptenă (Gheţie, 1969).

2) CONFIGURAŢIA SPAŢIALĂ

Configuraţia spaţială a situsurilor de combinare este determinată de structura primară a moleculei. Molecula de anticorp se poate deplia complet prin ruperea legăturilor necovalente şi disulfidice. Îndepărtînd agenţii de depliere molecula îşi recapătă capacitatea de a se combina cu antigenul, într-o măsură semnificativă. În prezenţa haptenei, situsul de

Scanned with OKEN Scanner

combinare îşi păstrează intactă conformaţia chiar dacă anticorpii sînt supuşi unui tratament care rupe legăturile de hidrogen. Această comportare se explică acceptînd că haptena stabilizează structura situsului de combinare, interacţionînd cu aminoacizi care se găsesc la distanţă unii de alţii în lanţ (Cathou şi Werner, 1970).

La alcătuirea situsului de combinare s-a găsit că participă aproape 15 resturi de aminoacizi din Fab. Dimensiunile situsului au putut fi determinate măsurînd interacţiunea anticorpilor cu haptene de dimensiuni variabile. Astfel s-a arătat că reacţia de precipitare dintre dextran şi anticorpii de om anti-dextran poate fi inhibată de izomaltohexoză, alcătuită din şase resturi de glucoză. Pe această bază s-a calculat că dimensiunile situsului de combinare al anticorpilor anti-dextran sînt de 34 × × 12 × 6 Å (Kabat, 1968). Valori comparabile s-au găsit şi prin folosirea antigenelor sintetice (polialanină). Suprafaţa maximă a unor astfel de situsuri de combinare poate fi de 1 000 Å, valoare care, raportată la suprafaţa totală a moleculei (aproximativ 70 000 Å^2), reprezintă ceva mai mult de 1% din suprafaţa întregii molecule. Numărul de aminoacizi care pot asigura astfel de dimensiuni situsului de combinare variază între 10—20 de resturi, adică aproximativ 1% din numărul total de aminoacizi ai IgG (Gheţie, 1969).

3) COMPOZIŢIA CHIMICĂ

Determinarea aminoacizilor care participă la legarea specifică a antigenelor s-a făcut cu ajutorul unor metode care realizează blocarea, mai mult sau mai puţin specifică, a unor aminoacizi sau grupări funcţionale. Cercetînd activitatea imunologică a anticorpilor după o astfel de blocare, în prezenţa şi în absenţa haptenei corespunzătoare, se pot trage concluzii în legătură cu aminoacizii care sînt implicaţi în fixarea liganduluí. Astfel, la imunizarea animalelor cu o haptenă ce disociază ioni pozitivi (de ex., para-azofenil-trimetilamoniu) se formează anticorpi în al căror situs de combinare există aminoacizi cu sarcini negative, carboxilice (acid glutamic sau aspartic). O haptenă negativă (de ex., para-azobenzoat) induce anticorpi ce conţin în situsul lor de combinare aminoacizi bazici, încărcaţi pozitiv (arginină şi, mai puţin, lizină).

Prezenţa tirozinei a fost de asemenea, semnalată în situsul de combinare al anticorpilor anti-benzoat şi anti-fenilarsonat, dar nu şi în cei anti-azofeniltrimetilamoniu. S-au iodurat anticorpii cu ^{131}I în prezenţa haptenei (iodurare în afara situsului de combinare) şi apoi, cu ^{125}I în absenţa haptenei (iodurarea situsului şi în afara situsului). Amestecînd cele două preparate şi supunîndu-le digestiei enzimatice s-a putut identifica o peptidă cu un raport $^{125}I/^{131}I$ mai mare ca 1, care provine, sigur, din situsul de combinare. În compoziţia acestei peptide s-a găsit un rest de tirozină care pare prezentă atît în lanţul L, cît şi în lanţul H. Secvenţa tripeptidei izolate a putut fi identificată în regiunea V_H, în resturile de aminoacizi cuprinse între poziţiile 85—120 (Friedenson şi colab., 1972).

În situsul de combinare al anticorpilor anti-DNP a fost pus de asemenea în evidenţă triptofanul (Velick şi colab., 1960).

Scanned with OKEN Scanner

4) DETECTAREA AMINOACIZILOR CARE INTERACȚIONEAZĂ CU ANTIGENUL

În acest scop se aplică metode de *marcare prin afinitate* a anticorpilor (Singer, 1967). Anticorpii se tratează cu un reactiv de tip HR unde H este haptena, iar R o grupare care leagă covalent (ireversibil) haptena cu unii aminoacizi. În prima etapă, haptena se combină cu situsul de combinare, iar ulterior se leagă ireversibil de un aminoacid din vecinătatea situsului. Cea mai utilizată grupare R a fost cea diazo atașată la un număr mare de haptene marcate cu ^{3}H sau ^{14}C; gruparea diazo se leagă de tirozină, de aceea aminoacidul trebuie să fie prezent în situsul de combinare pentru ca marcarea să reușească.

S-a constatat că prin această tehnică se marchează atît lanțul H, cît și lanțul L, dar acesta din urmă într-o proporție mai mică decît primul. Purificarea peptidelor radioactive din lanțurile L și H scindate enzimatic sau chimic se face cu multă greutate deoarece anticorpii nu sînt omogeni. Totuși, în cazul anticorpilor de cobai anti-DNP (din subclasa IgG2) s-a putut evidenția legarea haptenei de o tirozină așezată în regiunea V_H (în jurul aminoacidului din poziția 100) (Cebra și colab., 1971). De asemenea, s-a realizat marcarea prin afinitate, cu aceeași haptenă, a anticorpilor de porc anti-DNP observîndu-se că ambele tipuri de lanțuri fixează haptena, dar cel greu legînd de două ori mai multă. Haptena radioactivă a fost identificată în lanțurile ușoare în V_L, în poziția 33 și 93 (zona hipervariabilă) (Franěk, 1971).

Recent s-a preparat o nouă haptenă, ε-4-azido-2-nitrofenil-L-lizină (NAP-lizină), în care gruparea ei determinantă include și pe cea reactivă, astfel că gruparea reactivă formează o legătură covalentă între haptenă și aminoacidul cu care aceasta vine în contact în situsul de combinare. Anticorpii de iepure anti-NAP au fixat haptena de 3,5 ori mai mult în lanțul H decît în L. Cea mai mare cantitate de haptenă a fost identificată într-o peptidă care provine din regiunea V_H în pozițiile 95—99 (Press și colab., 1971).

Comparînd rezultatele obținute pînă acum cu marcarea prin afinitate cu cele care au semnalat existența regiunilor hipervariabile în V_L și V_H, se constată că toate pozițiile găsite că posedă aminoacizi ce fixează haptena sînt cuprinse în regiunile hipervariabile ale lanțurilor L și H. Această constatare întărește ideea că resturilor de aminoacizi din regiunile hipervariabile ale V_L și V_H determină specificitatea situsului de combinare și fixează antigenele.

5) VALENȚA ANTICORPILOR

Valența anticorpilor exprimă numărul de situsuri de combinare existente în moleculă. Pentru anticorpii de tip IgG s-a găsit, prin toate metodele folosite, valoarea 2 (Karush, 1962). Ea a fost determinată experimental prin metoda echilibrului de dializă care măsoară și constanta de asociere dintre anticorpi și haptena specifică (cap. 6).

Valența anticorpilor din clasa IgM a fost găsită 5 sau 10. S-a observat că valența anticorpilor IgM pentru antigene cu dimensiuni mari (IgG

Scanned with OKEN Scanner

sau albumină) este 5, în timp ce pentru haptene este 10. Dependența valenței de G. M. a antigenului a fost urmărită pe anticorpi de iepure anti-dextran în raport cu G.M. a unor preparate de dextran care a variat între $3 \times 10^2 - 1{,}9 \times 10^6$ (fig. 20). Este de notat că valența IgM pare a fi doar 2 în raport cu un dextran cu greutate moleculară mare ($1{,}9 \times 10^6$); în acest caz, anticorpii de tip IgG apar univalenți. Valența nu dă seama deci de numărul situsurilor de combinare reale, ci numai de cele care nu sînt împiedicate steric să-și manifeste prezența.

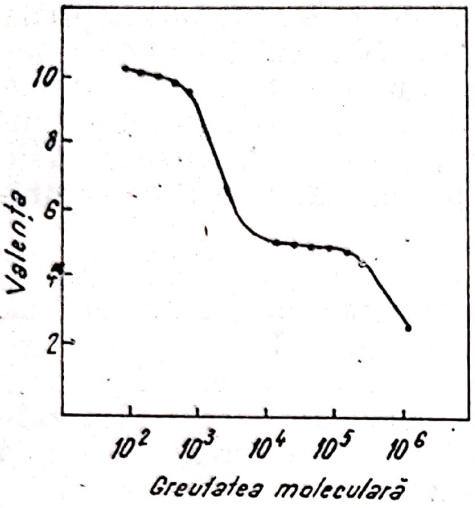


Fig. 20. — Variația valenței anticorpilor IgM anti-dextran cu greutatea moleculară a antigenului (după Edberg și colab., 1972).

G. ALOTIPIA ȘI IDIOTIPIA

1) SPECIFICITATEA ALOTIPICĂ A IMUNOGLOBULINELOR UMANE

După cum s-a menționat, există diferite variante controlate genetic ale Ig la om și la alte specii (iepure, șoarece, șobolan).

Pentru Ig umane sînt bine caracterizați doi markeri alotipici, Gm și Inv, controlați de două locusuri genetice distincte (*Gm*, respectiv *Inv*)*. Termenul Gm derivă de la cuvintele *G*enetic *m*arker, iar Inv de la *In*hibitor *V* (Victor, numele pacientului). Factorul Gm este caracteristic pentru lanțul greu (γ), iar factorul Inv a fost găsit numai pe lanțurile ușoare ($\varkappa$). Pînă în prezent s-au găsit 25 de alotipi pentru sistemul Gm și 3 alotipi pentru sistemul Inv (Inv1, Inv2, și Inv3). Specificitățile alotipice Gm nu sînt distribuite egal între cele patru subclase de IgG și chiar în cadrul unei subclase nu sînt prezente în toate proteinele ce aparțin acestei subclase (Grubb, 1970).

2) LOCALIZAREA FACTORILOR GENETICI ÎN MOLECULĂ

Majoritatea factorilor Gm sînt localizați pe lanțul H în regiunea Fc și numai cîțiva (Gm3, Gm4 și Gm17) au fost găsiți în Fd. Examinarea secvenței lanțurilor grele din diferite subclase de IgG a permis să se stabilească că la baza specificității alotipice Gm a variantelor alelice studiate se găsesc una sau cîteva substituții de aminoacizi. Astfel, pentru lanțul $\gamma 1$ s-a găsit că substituirea poziției 214 (în Fd) cu lizină dă seama de factorul Gm17, în timp ce specificitatea Gm4 este dată în prezența argininei în aceeași poziție (Dray și Cebra, 1971). Pentru lanțul $\gamma 3$ în poziția 436 se găsește fenilalanina pentru Gm21 și tirozina pentru pro-

* Notația genei (alelei) este diferită de cea a fenotipului (alotipului) pe care îl determină. Ea se tipărește cu caractere aldine, iar cifrele se trec la exponent (de ex., alela Gm^1 controlează alotipul Gm1).

teinele care nu au acest factor (Gm-21). Factorul Gm1 este localizat în Fc ($C\gamma_3$3) şi este caracterizat printr-o secvenţă care diferă în două poziţii de cea a IgG1 care nu conţine acest factor (Gm-1).

Î regiunea Fc a unor mieloame aparţinînd subclasei IgG1 s-a pus în evidenţă un sistem independent de marker genetic notat Isf (sf : San Francisco), din care, pînă în prezent, s-a determinat un singur factor (Isf1). S-au descris de asemenea variante alelice la subclasa IgA2 determinate de variaţii în lanţul alfa, ceea ce ridică la 3 (Gm, Isf şi Am2) locusurile genetice care controlează specificitatea alotipică a lanţurilor grele din Ig umane.

Lanţurile uşoare de tip kappa sînt sub controlul unui locus distinct, Inv, responsabil pentru specificitatea alotipică a acestui lanţ. În proteine Bence-Jones de tip kappa, avînd specificitatea Inv1 s-a constatat că poziţia 191 este ocupată de leucină, în timp ce factorul Inv3 are valina în această poziţie. Specificitatea Inv2 este strîns asociată cu cea Inv1 (numai 3—6% din indivizii Inv1 fiind Inv—2). De aceea ea este deseori notată Inv1, 2 fără însă a se cunoaşte dacă pentru Inv1, 2 corespunde o altă substituţie de aminoacid în poziţia 191.

Este de subliniat, de asemenea, că exprimarea specificităţii alotipice pentru unii factori ai sistemului Inv şi Gm este dependentă de structura cuaternară a IgG. Astfel, Gm3, 4 nu poate fi evidenţiat pe lanţul H izolat numai dacă acesta este recombinat cu lanţul L, chiar dacă L provine de la un individ Gm-3, -4.

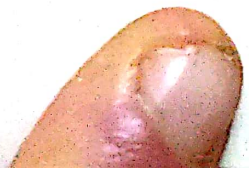
3) SPECIFICITATEA ALOTIPICĂ A IMUNOGLOBULINELOR DE IEPURE

Primele variante alotipice ale IgG s-au pus în evidenţă la iepure. Se cunosc 4 locusuri ce controlează specificitatea alotipică a lanţurilor grele (a, d, e şi Ms) şi 2 locusuri pentru lanţurile uşoare (b şi c). Determinanţii alelici ai locusului „a" (a_1, a_2 şi a_3), spre deosebire de alotipurile umane, se găsesc pe toate cele patru tipuri de lanţuri grele (γ, μ, α, ε). Acest lucru dovedeşte că o porţiune din lanţul greu, cuprinsă în Fd (în V_H), are o structură asemănătoare la cele patru tipuri de lanţuri grele, ceea ce susţine ipoteza celor două gene *V* şi *C*, care codifică pentru regiunile V şi C din lanţul greu.

Se remarcă şi în cazul alotipurilor de iepure că determinanţii alelici (de ex. b_4, b_5), care sînt controlaţi de un singur locus (*b*), nu se găsesc pe aceeaşi moleculă de IgG (respectiv pe acelaşi lanţ kappa) astfel că, într-un organism eterozigot (b_4, b_5) cei doi determinanţi alelici vor fi găsiţi pe două molecule diferite (Nezlin, 1972).

4) RESTRICŢIA NUMĂRULUI DE MARKERI GENETICI

O celulă plasmatică sau o clonă produce un singur marker genetic sau o constelaţie particulară de markeri, în care se poate exprima numai una dintre alelele locusului genetic activat. Acest fenomen de *excludere alelică* a fost dovedit prin experienţe care au arătat că : *a*) într-o celulă se sintetizează anticorpi numai dintr-o singură clasă de Ig ; *b*) dacă ei sînt din clasa IgG aparţin numai unei singure subclase ; *c*) numai unul



Scanned with OKEN Scanner

din cei doi determinanţi alelici prezenţi într-un eterozigot este identificabil în molecula fabricată. Deoarece în serul unui individ pot să apară mai mulţi factori alotipici (de ex., la Gm) înseamnă că această situaţie oglindeşte o eterogenitate a populaţiei de celule plasmatice, fiecare clonă producînd Ig cu markeri alotipici diferiţi (Grubb, 1970).

O consecinţă a acestei situaţii este reducerea numărului de markeri genetici în cazul proteinelor mielomatoase, spre deosebire de Ig normale, datorită faptului că procesul de malignizare cuprinde un număr limitat de clone plasmocitare care, la rîndul lor, sintetizează Ig cu număr limitat de markeri genetici. De aceea, specificităţile alotipice codificate de alele la un singur locus nu apar într-o proteină mielomatoasă dată. Astfel, nu s-a găsit IgG mielomatoasă care să conţină factorii Gm1 şi Gm4, în timp ce această asociaţie este comună cu IgG normală.

Este posibil să se producă excluderea unui alotip prin administrarea, la iepuri sau şoareci nou-născuţi, de anticorpi anti-alotip, dirijaţi faţă de unul din determinanţii alelici ai eterozigotului (Dubiski, 1967). Astfel dacă unui iepure nou-născut, eterozigot pentru locusul *b* (b^2, b^5), i se administrează ser anti-b2, se constată deprimarea activităţii alelei b^2 şi o creştere compensatoare a activităţii alelei b^5.

Aceste studii ar arăta că suprafaţa celulară poate acţiona ca un receptor de mesaje capabile să inactiveze o parte din genomul celulelor producătoare de Ig. Acest tip de excludere alelică poate fi însă determinat de omorîrea sau represarea unor clone celulare ce sintetizează determinanţii alelici faţă de care s-a administrat antiser.

5) SPECIFICITATEA IDIOTIPICĂ A IMUNOGLOBULINELOR

Specificitatea idiotipică este specificitatea antigenică individuală, unică, a unei populaţii de molecule de anticorpi sau de proteine mielomatoase. Este *unică* deoarece ea este numai foarte rar purtată în comun şi de alţi anticorpi cu aceeaşi specificitate, dar provenind de la alţi indivizi ai aceleiaşi specii; ea este particulară unui singur individ (Potter şi Kunkel, 1971).

Grupările determinante care constituie un idiotip oarecare sînt localizate pe Fab (în V_H şi V_L), reflectînd *secvenţe* de aminoacizi *unice* (foarte rar regăsibile şi la alţi indivizi). Determinanţii idiotipici se găsesc plasaţi în situsul de combinare al anticorpilor sau într-o regiune adiacentă lui. Evidenţierea lor se face cu ajutorul anticorpilor anti-idiotip, preparaţi prin imunizarea cu anticorpi sau proteine mielomatoase a animalelor din alte specii (eterologe), din aceeaşi specie (omologe) sau din aceeaşi specie, dar din linii genetice diferite (izologe). De exemplu, imunizînd un iepure cu anticorpi antibenzoat obţinuţi de la un singur iepure ce are acelaşi alotip ca animalele imunizate (pentru a exclude formarea anticorpilor anti-alotip) s-au obţinut anticorpi anti-idiotip. Ei sînt capabili să reacţioneze numai cu anticorpii anti-benzoat ai iepurelui donor dar nu şi cu anticorpii anti-benzoat ai altor iepuri, sau cu IgG nespecifică obţinută de la iepurele donor. Legarea anticorpilor anti-idiotip de anticorpii anti-benzoat ai iepurelui donor (marcaţi de obicei cu ^{125}I)

este inhibată de fragmentul $F(ab')_2$ obţinut din aceşti anticorpi sau de haptena specifică. Această comportare arată că determinanţii idiotipici sînt localizaţi pe $F(ab')_2$ şi că ei pot fi mascaţi de haptenă, ca şi cum s-ar afla în situsul de combinare.

H. IMUNOGLOBULINE OMOGENE

1) ANTICORPI CU ETEROGENITATE RESTRÎNSĂ

Dacă cauzele care generează eterogenitatea alotipică se îndepărtează, folosind numai serul unui individ şi numai anticorpi dintr-o singură clasă sau subclasă, se constată că totuşi anticorpii prezintă o eterogenitate fizico-chimică semnificativă. În acest caz, eterogenitatea este determinată de particularităţile structurale ale antigenului.

Antigenul poate cuprinde două sau mai multe grupări determinante, de aceea serul imun va fi un amestec de anticorpi cu o specificitate diferită, fiecare fiind capabil să se combine numai cu o singură grupare determinantă din molecula antigenului. Chiar dacă antigenul conţine grupări determinante de un singur fel, eterogenitatea anticorpilor se menţine. Este cazul anticorpilor anti-DNP care se obţin prin injectarea unor conjugate de proteină-DNP. Numărul de molecule DNP care se introduc într-o moleculă de proteină variază între 10 şi 20. Ele pot să se cupleze cu diferiţi aminoacizi de pe suprafaţa proteinei-suport, aşa că vor prezenta particularităţi legate de aminoacidul pe care îl substituie şi de proprietăţile fizico-chimice ale regiunii în care sînt plasate. În consecinţă, se vor forma anticorpi anti-DNP cu afinităţi variabile pentru haptenă (Singer, 1964). Rezultă că pentru a obţine anticorpi cu eterogenitate restrînsă (*anticorpi omogeni*) (Krause şi Haber, 1971) trebuie utilizate antigene care să conţină, pe cît posibil, un singur determinant antigenic, nerepetitiv.

Eterogenitatea anticorpilor poate fi restrînsă dacă se imunizează animalele îndelungat, procedeu ce favorizează păstrarea în funcţie numai a clonelor ce sintetizează anticorpi cu afinitate ridicată şi care prezintă o eterogenitate limitată.

Pentru a afirma că un anticorp este omogen se cere ca acesta să îndeplinească următoarele condiţii (Krause, 1970) : *1*) să se prezinte sub forma unei benzi electroforetice *unice* şi *îngustă*; *2*) să aibă o specificitate antigenică individuală (serurile preparate faţă de aceşti anticorpi să poată reacţiona cu ei chiar după ce au fost adsorbite cu Ig din clasa şi subclasa la care aparţin anticorpii); *3*) să aparţină la o singură subclasă de Ig; *4*) să aibă o constantă de asociere (K_0) a antigenului omogenă; *5*) lanţul L să prezinte omogenitate electroforetică în poliacrilamidă şi să aparţină numai la un tip (kappa sau lambda); *6*) să aibă o secvenţă unică.

Aceste condiţii sînt îndeplinite, mai mult sau mai puţin complet, de unii anticorpi antipolizaharidici obţinuţi la iepure, şoarece şi om. Prin imunizarea iepurilor cu vaccin streptococic (sau pneumococic) se observă că aproximativ 20 % din animale sintetizează anticorpi faţă de antigenul

polizaharidic, formînd anticorpi omogeni. Este de subliniat că aceşti anticorpi omogeni se găsesc în concentraţii foarte ridicate (20—60 mg/ml) astfel că, dintr-un singur iepure se pot izola prin plasmafereze multiple suficienţi anticorpi pentru efectuarea secvenţei (aproximativ 10 g).

Constatări similare s-au făcut şi asupra anticorpilor de iepure anti-pneumococ VIII şi III şi a celor de om antilevan. Pare rezonabil să se considere că structura particulară a antigenelor polizaharidice (unităţi simple repetitive în dextran, prezenţa unor zaharuri neobişnuite în streptococ) este responsabilă pentru formarea anticorpilor omogeni.

2) PROTEINE MIELOMATOASE CU ACTIVITATE DE ANTICORPI

Proteinele mielomatoase sînt singurele Ig omogene care apar în sîngele oamenilor ca rezultat al unor procese neoplazice instalate la nivelul celulelor formatoare de anticorpi sau în cel al şoarecilor ca rezultat al inducerii unor plasmocitoame cu ajutorul uleiurilor minerale.

S-a constatat că proteinele mielomatoase au capacitatea de a fixa specific compuşi chimici (liganzi) ca : DNP, 5-azouracil, tetranitrometan, 2-metil-1,4-naftochinona (menadiona), fosforilcolina etc. Este interesant de observat că unele mieloame care reacţionează cu DNP dau o reacţie „încrucişată" neaşteptată cu menadiona (Eisen, 1971). Menadiona (vitamina K_3), un precursor al vitaminelor K, este prezentă în ţesuturi în cantităţi mici şi, sub forma unor naftochinone înrudite, în bacteriile intestinale. Marea incidenţă a anticorpilor anti-DNP în mieloamele de şoarece s-ar explica prin capacitatea anticorpilor antimenadionă de a reacţiona cu DNP. Este interesant de observat, de asemenea, că mieloamele de şoarece sînt mai ales din clasa IgA şi sînt produse de plasmocitoame situate în sau aproape de tractul intestinal. De aceea nu este surprinzătoare constatarea că mieloamele de şoarece de tip IgA au şi o activitate de anticorp dirijată faţă de polizaharidele din bacteriile intestinale. Se pare deci, că procesele neoplazice ating celule active care produc anticorpi faţă de cîte una din substanţele micromoleculare (vitamina K_3 ?) sau macromoleculare (polizaharidele bacteriilor intestinale) ce se găsesc în organism. La Ig monoclonale s-a găsit o largă gamă de activităţi imunologice dirijate şi faţă de componenţi macromoleculari ce se găsesc în mod normal în organism. Astfel s-a observat legarea IgG, alfa-2 macroglobulinei, feritinei etc.

BIBLIOGRAFIE

Abaturov L. V., Nezlin R. S., Vengerova T. I., Varshavski Ia. M., Biochim. Biophys. Acta, 1969, *194*, 386.

Cathou R. E., Werner T. C., Biochemistry, 1970, *9*, 3 149.

Cebra J. J., Ray A., Benjamin D., Birshtein B., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 269.

Cunningham B. A., Gottlieb P. D., Pflumm M. N., Edelman G. M., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 3.

Davies D. R., Sarma V. R., Labaw L. W., Silverton E. W., Terry W. T., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 25.

Dray S., Cebra J. J., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 133.

Scanned with OKEN Scanner

DUBISKI S., Nature, 1967, *214*, 1 365.
EDBERG S. C., BRONSON P. M., VAN OSS J., Immunochemistry, 1972, *9*, 273.
EDELMAN G. M., GALLY J. A., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1964, *51*, 846.
EDELMAN G. M., GALL U. E., Ann. Rev. Biochem., 1969, *38*, 415.
EDELMAN G. M., în STERZL J., RÍHA I., *Developmental aspects of antibody formation and structure*, Academia, Praga, 1970, p. 381.
EISEN N. H., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 273.
FRANĚK F., Europ. J. Biochem., 1971, *19*, 176.
FRANKLIN E. C. în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 750.
FRIEDENSON B., APPELLA E., ROHOLT O. A., FRESSMAN D., Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, *48*, 1 208.
GHEȚIE V., în NESTORESCU N., *Progrese recente în disciplinele imunologice*, Edit. medicală, București, 1969, p. 67.
GHEȚIE V., BUZILĂ L., Rev. roum. Biochim., 1972, *9*, 125.
GHEȚIE V., MIHĂESCU S., Immunochemistry, 1973, *10*, 251.
GHEȚIE V., MOȚA G., Immunochemistry, 1973, *10*, 839.
GREAVES M. F., HOGG N. M., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 111.
GRUBB R., *The genetic markers of human immunoglobulins*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1970.
HALPERN M. S., KOSLAND M. E. Nature, 1970, *228*, 1 276.
HESS M., HILSCHMANN N., Hoppe-Seyler's Z. physiol. chem., 1971, *352*, 657.
HOCHMAN J., INBAR D., GIVOL D., Biochemistry, 1973, *12*, 1 130.
ISHIZAKA K., ISHIZAKA T., J. Immunol., 1967, *99*, 1 187.
JERRY L. M., KUNKEL H. G., ADAMS L., J. Immunol., 1972, *109*, 275.
JOHANSSON S. G. O., BENNICH H., WIDE L., Immunology, 1968, *14*, 265.
JOHANSSON S. G. O., OVARY Z., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 299.
KABAT E. A., *Structural concepts in immunology and immunochemistry*, Holt, Rinehart and Wiston, New York, 1968, p. 112.
KARUSH F., Adv. Immunol., 1962, *2*, 1.
KEHOE J. M., CAPRA J. D., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971, *68*, 2 019.
KRAUSE R. M., Adv. Immunol., 1970, *12*, 1.
KRAUSE R. M., HABER E., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 493.
MEDGYESI G. A., Immunochemistry, 1973, *10*, 850.
MESTECKY S., ZIKÁN J., BUTLER W. T., Science, 1971, *121*, 1 163.
METZGER H., POTTER M., TERRY N., Immunochemistry, 1969, *6*, 831.
METZGER H., Ann. Rev. Biochem., 1970, *39*, 889.
NEZLIN R. S., *Stroenie i biosintez antitel*, Nauka, Moscova, 1972.
NIEDERMEYER W., KIRKLAND T., ACTON R. T., BENNETT J. C., Biochim. Biophys Acta, 1971, *237*, 442.
POLJAK R. I., AMZEL L. M., AVEY H. P., BECKA L. N., NISSONOF A., Nature New Biology, 1972, *235*, 137.
PORTER R. R., în *Basic problems in neoplasic disease*, Coloumbia Univ. Press, New York, 1962, p. 177.
POTTER M., KUNKEL H. G., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 361.
PRESS E. M., FLEET G. W. J., FISHER C. E., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 233.
PUTNAM F. W., Science, 1969, *163*, 633.
PUTNAM F. W., SHIMITZU A., PAUL C., SHINODA T., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 291.
ROWE D. S., DOLER R., WELSCHER H. D., Immunochemistry, 1969, *6*, 437.
SINGER S. J., Immunochemistry, 1964, *1*, 15.
SINGER S. J., Adv. Protein Chem., 1967, *22*, 1.
ŠKVARŘIL F., RADL J., Clin. Chim. Acta, 1967, *15*, 544.
SPIEGELBERG H. L., ABEL C. A., FISHKIN C. A., GREY H. M., Biochemistry, 1970, *9*, 4 217.
STEWART M., Biochim. Biophys. Acta, 1971, *236*, 440.
TOMASI T. B., GREY H. B., Progress in Allergy, 1972, *16*, 81.
TOMASI T. B., CEBRA J. J., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 481.
VALENTINE R. C., GREEN N. M., J. Mol. Biol., 1967, *22*, 615.
VELICK S. F., PARKER C. W., EISEN H. N., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1960, *46*, 1 470.
WALDMAN T. A., GHEȚIE V., în *Progress in Immunology*, Acad. Press, New York, 1971, p. 1 187.
WU T. T., KABAT E. A., J. exp. Med., 1970, *132*, 211.

Scanned with OKEN Scanner

5. DEZVOLTAREA RĂSPUNSULUI IMUN

Modalitatea de reacţie a unui organism sau a celulelor imunocompetente la contactul cu un antigen constituie „răspunsul imun". După felul şi doza antigenului de contact, după specia animală şi starea fiziopatologică a organismului supus contactului cu antigenul există, desigur, mai multe modalităţi de reacţie (cap. 1). În toate cazurile, însă, se pot distinge două faze principale, bine diferenţiate, ale proceselor imune: *răspunsul primar*, ca sumă a reacţiilor imunitare la primul contact cu antigenul, şi *răspunsul secundar*, ca sumă a reacţiilor declanşate de un al doilea (al treilea etc.) contact cu antigenul.

A. MECANISMELE DE INSTALARE A STĂRII DE IMUNITATE. RĂSPUNSUL IMUN PRIMAR

I. MESROBEANU şi EUG. PĂUNESCU

Procesele biologice care contribuie la realizarea răspunsului imun sînt complexe, interdependente şi înlănţuite dinamic. La primul contact cu antigenul, un organism nu răspunde imediat; pentru instalarea stării de imunitate este necesar să aibe loc o serie de procese celulare nespecifice, înlănţuite în timp, care în final asigură capacitatea organismului în cauză de a reacţiona rapid şi specific la contactul cu antigenul.

Perioada de timp necesară inducerii stării de imunitate — denumită „perioadă de latenţă" — corespunde lanţului de procese celulare care asigură înglobarea intracelulară a antigenului, analiza şi prelucrarea sa metabolică, urmate de formarea primei serii de efectori imuni capabili să reacţioneze specific cu antigenul.

1) ÎNGLOBAREA INTRACELULARĂ A ANTIGENULUI FAGOCITOZA ŞI PINOCITOZA

Odată pătruns în organism, un antigen este recunoscut ca o substanţă străină şi captat de către celulele fagocitare. Dintre acestea, polimorfonuclearele degradează complet antigenele, în timp ce macrofagele păstrează intactă o parte din molecula antigenului, parte care s-a dovedit a conţine determinanţii antigenici.

Încă din 1899, Metchnikoff a demonstrat că celulele fagocitare mari din ficat (celulele Kupffer) şi din ţesutul limfoid, splină şi peritoneu sînt capabile să preia particule materiale, celule vii şi proteine străine; o parte din materialul străin preluat este reţinut în celulă sub formă nedegradată,

Scanned with OKEN Scanner

putînd fi pus în evidenţă după mai multe săptămîni sau chiar luni (Haurowitz, 1960; Campbell şi Garvey, 1963; Askonas şi colab., 1968).

Înglobarea intracitoplasmatică a antigenului se realizează cu ajutorul membranei de suprafaţă a macrofagului, care are proprietăţi particulare ce-i asigură o mare mobilitate (cap. 2). După felul şi talia antigenului, procesul de înglobare este definit diferit:

a) *Fagocitoza* este termenul utilizat pentru înglobarea antigenelor particulate, de talie mare, vizibile la microscop (celule bacteriene sau virale, detritusuri celulare, particule coloidale). Procesul începe cu acolarea strînsă a particulei la membrana celulară, urmată de „curgerea" citoplasmei în jurul particulei, realizîndu-se în final înconjurarea completă a particulei prin pseudopode emise de macrofag. În felul acesta ia naştere o „vacuolă de digestie", care este antrenată spre interiorul citoplasmei.

b) *Pinocitoza* se referă la înglobarea substanţelor solubile, micro- sau macromoleculare, a căror talie nu depăşeşte 500 Å. Desfăşurarea procesului este de asemenea vizibilă la microscopul optic, observîndu-se formarea unor mici voaluri hialoplasmatice, care se rabatează către celulă, înglobînd astfel o cantitate de lichid extracelular (care conţine antigenul sau altă substanţă străină) într-o „vacuolă pinocitară".

c) *Micropinocitoza* este denumirea dată unui fenomen de înglobare intracelulară a unor substanţe solubile, similare cu cele captate prin pinocitoză, însă prin intermediul unor procese vizibile numai la microscopul electronic. În aceste cazuri, la suprafaţa celulei care înglobează se formează mici depresiuni, de cîteva sute de Angströmi diametru; aceste depresiuni se adîncesc, iar în final are loc o apropiere şi fuziunea buzelor micilor invaginaţii, ceea ce face să pătrundă în celulă o mică picătură din lichidul extracelular.

d) *Penetraţia* mediată de purtători are loc de asemenea la nivelul membranei celulare şi este realizată de o categorie specială de proteine. Procesul a fost mai amănunţit studiat în cazul intervenţiei unor enzime ca translocazele şi permeazele, ca şi în cazul unor purtători proteinici neenzimatici implicaţi în transportul aminoacizilor.

e) *Difuziunea liberă*, mecanism prin care se realizează trecerea prin membrana celulară a unor electroliţi şi unor substanţe micromoleculare de origine organică sau anorganică, nu apare direct implicată în procesul de înglobare a antigenelor. Mecanismul nu poate fi însă exclus pentru cazul preluării unor haptene cu talie mică şi structură simplă. De asemenea, aşa cum remarcă Mesrobeanu şi colab. (1970), este posibilă pătrunderea unui antigen (toxină bacteriană) în celulă fie prin alterarea permeabilităţii membranei celulare, fie prin ruperea moleculei antigenice în fragmente mici, difuzibile, ca urmare a acţiunii unor enzime de la nivelul membranei celulare sau din mediul ambiant.

O imagine de detaliu privind procesele morfologice şi metabolice care asigură pinocitarea antigenelor rezultă dintr-o serie de cercetări asupra preluării leucocitare a toxinelor proteinice bacteriene (Mesrobeanu şi colab., 1970). În aceste experimente, în cazul urmăririi proceselor la microscopul cu contrast de fază s-au folosit toxine marcate cu izotiocianat de fluoresceină (Mesrobeanu şi colab., 1964—1965), iar în cazul examinării electronooptice toxinele au fost marcate cu acetat de uranil (Mesrobeanu

Scanned with OKEN Scanner

şi colab., 1964). Leucocitele au fost obţinute din exsudate peritoneale de cobai, şobolan şi şoarece.

După 5 minute de contact între leucocite şi toxine se poate observa, la nivelul membranei celulare, apariţia de pseudopode şi o tendinţă la rotunjire a celulei. Picăturile de lichid prezente între pseudopode sînt gradat înglobate, fie prin unirea pseudopodelor fie, mai simplu, prin plierea membranei. Prezenţa picăturilor de mediu extracelular conţinînd toxina putea fi observată în invaginările membranei ca şi în canaliculii formaţi prin invaginări profunde. Asemenea canaliculi, cu o adîncime de 0,5—1,5 persistă circa 30—60 secunde; ei drenează 1—4 picături (uneori mai multe), dînd naştere la vacuolele de pinocitare. Acestea rămîn un timp localizate la periferia citoplasmei, unde începe o acumulare de granule citoplasmice specifice, lizosomii. Aceste formaţiuni complexe emerg ulterior către zona perinucleară, unde produc vacuole largi, de 0,2—2μ, înconjurate de o membrană fină, cu indice de refracţie mai mare decît cel al hialoplasmei.

Procesele de pinocitoză sînt strîns dependente de mecanismele metabolice. Astfel, formarea invaginărilor şi a vacuolelor este însoţită de modificări bioenergetice, care asigură energia necesară proceselor celulare (Păunescu şi Hadîrca, 1964). De asemenea, contopirea vacuolei pinocitare cu lizosomii este concomitentă cu o activare a enzimelor lizosomale, care asigură degradarea antigenului (Păunescu şi colab., 1967; Păunescu şi Stoinescu, 1970).

Energia necesară pentru procesele realizate în cursul înglobării antigenului de către leucocite rezultă din catabolizarea glucozei pe cale anaerobă. Shunt-ul pentozic, realizat concomitent, serveşte şi ca sursă de metaboliţi pentru sinteza de RNA (Păunescu şi colab., 1971). Procesele bioenergetice leucocitare sînt controlate de cîteva enzime principale, ca oxidazele NADH şi NADPH, care refac gama de coenzime necesare pentru dehidrogenările ce au loc în cursul glicolizei anaerobe. Lactat-dehidrogenaza NADPH-dependentă este implicată, într-o anumită măsură, în oxidarea NADPH (Karnowsky şi colab., 1967).

În cursul pinocitării neurotoxinelor de către leucocite, dehidrogenaza glucozo-6-fosfatului manifestă o creştere marcată a activităţii (Mesrobeanu şi colab., 1970; Păunescu şi colab., 1971), în special în primele 30 de minute. De asemenea, oxidazele NADH şi NADPH manifestă o intensificare marcată a activităţii lor; acumularea în timp a peroxidului de hidrogen duce la inhibarea activităţii acestor enzime.

Alte multiple modificări metabolice au loc la nivelul celulei fagocitare în cursul degradării antigenului.

2) PRELUCRAREA METABOLICĂ INTRAFAGOCITARĂ A ANTIGENULUI

Cohn şi Benson (1965), punînd în contact macrofage de şoarece cu proteine serice de viţel, constată o masivă creştere a conţinutului celular în proteină, paralel cu intensificarea activităţii principalelor enzime lizosomale (fosfataza acidă, catepsina, β-glucuronidaza); aceste creşteri

Scanned with OKEN Scanner

sînt în raport direct atît cu timpul de contact, cît şi cu concentraţia antigenului în mediu (tabelul nr. 10).

Tabelul nr. 10

Efectul concentraţiei antigenului asupra sintezei proteinice celulare şi a activităţii enzimelor lizosomale

Concentraţia antigenului în mediu (%)	Procentul de proteină celulară după 48 ore contact cu antigenul	Activitatea enzimelor lizosomale (U/mg N) după diferite perioade de timp (ore) de contact cu antigenul											
		fosfataza acidă				catepsina				β-glucuronidaza			
		4 ore	24 ore	48 ore	72 ore	4 ore	24 ore	48 ore	72 ore	4 ore	24 ore	48 ore	72 ore
1	10	100	120	220	630	1	1	1	1	1	1	1	1
20	15	100	280	635	1 400	1	1,3	1,5	2,2	1	1,5	1,8	3
50	42	100	980	2 220	2 050	1	2,5	4,8	6,3	1	2,5	4,8	6,3

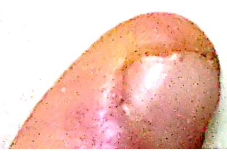
Experimente ca cele întreprinse de Cohn şi Benson au fundamentat conceptul despre secvenţa proceselor desfăşurate la nivelul celule macrofagice pusă în contact cu antigenul: odată pinocitat, prezenţa antigenului induce o masivă sinteză de proteine, care merg în paralel cu activarea enzimelor lizosomale şi, implicit, cu degradarea metabolică intrafagocitară a antigenului (cap. 2). Această catabolizare a antigenului are loc în „fagosomi", formaţiuni rezultate din condensarea vacuolei fagocitare (pinocitare) cu lizosomii.

Faptul că degradarea antigenului are loc la nivelul fagosomilor a rezultat din studiile care au folosit metoda autoradiografică şi cea de fracţionare prin gradienţi sucrozici de densitate (Cohn şi Wiener, 1963).

Autoradiografia combinată cu microscopia electronooptică au arătat că antigenul marcat radioactiv este localizat, în cursul şi după faza de degradare rapidă, atît în fagosomi cît şi la periferia şi pe suprafaţa macrofagelor (Askonas şi colab., 1968).

Determinarea localizării antigenului prin fracţionarea componentelor subcelulare în gradient sucrozic, realizată pe celulele ganglionilor limfatici regionali la 3, 17 şi 48 de ore de la inocularea antigenului marcat radioactiv (Askonas şi colab., 1968), a permis să se evidenţieze că antigenul este degradat rapid în primele ore după pinocitare, pentru ca ulterior (după 17 ore) să persiste un rest de antigen marcat, cu o talie foarte redusă. Acest rest de antigen, la 48 de ore, se constată că poate fi regăsit parţial împreună cu fracţiuni ale membranelor intracitoplasmice şi, în cea mai mare cantitate, împreună cu enzimele lizosomale (spre exemplu: fosfataza acidă).

Cercetările întreprinse pînă în prezent (Ada şi Lang, 1966; Nossal, 1967; McDevitt şi colab., 1966; Askonas şi colab., 1968) nu au putut evidenţia modificări mai importante privind preluarea, catabolizarea şi localizarea antigenului în macrofagele mobile peritoneale şi cele din medulara ganglionilor limfatici. Chiar în cazul organismelor imunizate, la care macrofagele ganglionilor limfatici care înglobează o cantitate de antigen mai mare decît cea preluată de macrofagele de la organismul neimunizat, calea de degradare şi persistenţa antigenului este asemănătoare.



Scanned with OKEN Scanner

Dacă macrofagele care au pinocitat şi degradat antigenul, păstrînd totuşi resturi din acesta, sînt inoculate la un organism normal, ele sînt capabile să inducă starea de imunitate. Aceasta demonstrează că, după prelucrarea metabolică la nivelul macrofagului, restul moleculei de antigen îşi păstrează capacitatea imunogenă.

3) ROLUL MACROFAGULUI ÎN PROCESELE DE RĂSPUNS IMUN PRIMAR

După cum s-a menţionat, macrofagele catabolizează rapid o mare parte (80—90%) din proteinele străine pinocitate, însă o mică proporţie din antigenul înglobat este menţinut nedegradat o lungă perioadă de timp (zile şi chiar multe săptămîni). În această perioadă, antigenul (sau restul nedegradat din molecula antigenică) este păstrat pe suprafaţa celulelor dendritice din ganglionii limfatici (Nossal, 1967), sau la periferia macrofagelor medulare, sub formă legată (complex RNA-antigen), protejată de activităţile catabolice. Sub această formă, restul antigenic îşi păstrează capacitatea imunogenă.

Existenţa acestui reziduu antigenic persistent face ca macrofagele care-l conţin să fie capabile să interacţioneze cu celulele imunocompetente, potenţial formatoare de anticorpi (deci celule limfoide), pregătindu-le pentru un răspuns imun.

Un prim experiment mai elocvent, care demonstrează capacitatea macrofagelor ce au preluat antigenul de a interacţiona cu celule limfoide singeneige şi de a stimula astfel un răspuns anticorpic, a fost prezentat de către Ford şi colab. (1966). Autorii au pus în contact macrofage peritoneale de şobolan cu globule roşii de oaie lizate; după fagocitarea acestora, macrofagele au fost puse *in vitro* împreună cu limfocite din canalul toracic. Ulterior, lmifocitele au fost separate şi inoculate la şobolani iradiaţi, care — după cîteva zile — produceau anticorpi antieritrocite de oaie. O probă martor, făcută în paralel, demonstra că limfocitele puse în contact direct cu hematii de oaie, nu erau capabile să asigure inducţia producerii de anticorpi.

Mitchison (1967) transferă, la şoareci singeneici, macrofage care pinocitaseră şi metabolizaseră antigenul (^{131}I—BSA) şi obţine un răspuns anticorpic mult mai eficient decît cel pe care-l provoca o cantitate echivalentă de antigen administrată direct.

Rezultate asemănătoare obţin Askonas şi colab. (1968), folosind drept antigen hemocianina, extrasă din *Maia squinado*. Cercetătoarea determină atît titrul anticorpilor, cît şi tipul de anticorpi produşi (tabelul nr. 11) şi constată că micile cantităţi de antigen stimulează numai secreţia de anticorpi IgM (19S), în timp ce cantităţile mari stimulează producţia atît de anticorpi „timpurii" (IgM), cît şi de anticorpi „tardivi", de tip IgG (7S). În plus, aşa cum se poate observa din tabelul nr. 11, pentru inducerea răspunsului imun, comparativ cu antigenul nemodificat, administrat în soluţie, sînt necesare cantităţile de antigen mult mai mici dacă acesta este prelucrat în prealabil de către macrofage.

Rolul macrofagelor în procesele de răspuns imun a rezultat şi din experimente întreprinse *in vitro*, în culturi de celule, constatîndu-se că, pentru inducţia răspunsului primar, prezenţa macrofagelor (celule aderente

la sticlă) alături de celule limfoide și antigen pare indispensabilă (Mosier, 1967); aceasta spre deosebire de răspunsul imun secundar, care *in vitro* nu pare să necesite prezența celulelor fagocitare (Beak și Mitchison, 1969; Moore și Schoenberg, 1968). Observațiile care argumentează pentru

Tabelul nr. 11

Cantitatea și tipul de anticorpi produși ca urmare a administrării antigenului înglobat în macrofage sau sub formă solubilă

Tipul de antigen administrat	Cantitatea de antigen administrată (în μg)	Titrul și tipul de anticorpi produși		
		titrul anticorpilor	IgM (19S)	IgG (7S)
Antigen înglobat și metabolizat de macrofage	0,001	1/32	+	−
	0,01	1/128	+	−
	0,1	1/512	++	++
	1,0	1/16384	++++	++++
Antigen în soluție	0,001	0	−	−
	0,01	1/16	+	−
	0,1	1/32	++	+
	1,0	1/2048	+++	+++

participarea macrofagului la instalarea imunității se bazează pe faptul că îndepărtarea fagocitelor (aderente la sticlă, vată, material plastic) dintr-o suspensie de limfocite reduce capacitatea acesteia de a răspunde proliferativ la prezența aloantigenului (Oppenheim și colab., 1966—1968) și pe faptul că adăugarea de fagocite mononucleare la suspensii de limfocite purificate crește semnificativ răspunsul celular imun (Seeger, 1971).

Atît macrofagele de la animalul imunizat, cît și cele de la animalul normal s-au dovedit la fel de eficiente în provocarea răspunsului proliferativ *in vitro* al limfocitelor puse în prezența antigenului, ceea ce pledează pentru lipsa de imunocompetență specifică a participării macrofagelor la răspunsul imun. În același sens, Unanue și Askonas (1968) constată că macrofagele peritoneale, care au pinocitat și prelucrat metabolic antigenul, fiind apoi transferate la șoareci singeneici iradiați în prealabil (700 *r*), pot induce răspuns imun numai dacă șoarecii receptori primesc în plus și celule limfoide de la donatori normali. Experimentele descrise de Unanue și Askonas dovedesc deci că macrofagele singure nu sînt capabile să producă anticorpi (efectori ai imunității umorale), neposedînd atributul unei celule imunocompetente. Acest atribut trebuie însă acordat celulei limfoide.

O serie de cercetări recente (Feldman și Basten, 1971; Greaves, 1972; Nossal, 1972) (cap. 2 și 3) au arătat că talia și densitatea determinanților antigenici, și deci valența lor, au o mare importanță pentru fixarea moleculei de antigen pe structurile imunoglobulinice de suprafață ale limfocitelor și deci pentru declanșarea răspunsului imun. Aceste observații sugerează că rolul macrofagului constă în facilitarea fixării antigenului pe limfocite: ca urmare a degradării parțiale în celula macrofagică a moleculei de antigen, talia acesteia, ca și densitatea (valența) determinanților antigenici pe restul de moleculă, devin convenabile.

Scanned with OKEN Scanner

Celule fagocitare specializate au fost evidenţiate şi implicate, pe baza unor mecanisme similare cu cel descris, în cazul colaborării T-B (cap. 2), la nivelul centrilor germinativi din corticala ganglionilor limfatici (Nossal, 1972). Antigenul este preluat de către celulele dendritice fagocitare din foliculii limfoizi primari şi este oferit, după prelucrare, celulelor B. Studiile de detaliu, efectuate în paralel la şoareci normali şi la şoareci congenital atimici, susţin conceptul după care — la nivelul centrilor germinativi — colaborarea T-B are loc prin intermediul celulei fagocitare, interacţiunea celulară devenind un triplet: celulă T — celulă dendritică — celulă B. Celula dendritică fagocitară preia de la limfocitul T matricea antigenului, generatoare de imunoglobuline-anticorpi, şi o prezintă limfocitelor B de la periferia centrului germinativ (Gutman şi Weissman, 1971).

4) ELABORAREA EFECTORILOR IMUNI

Instalarea stării de imunitate ca rezultat al unui prim contact cu antigenul se poate evidenţia prin punerea în evidenţă, în organismul respectiv, a anticorpilor circulanţi sau/şi a celulelor limfoide sensibilizate, capabile să reacţioneze specific cu antigenul (cap. 6). Anticorpii sînt deci consideraţi ca *efectori* ai proceselor imunitare de tip umoral, iar limfocitele sensibilizate ca efectori ai proceselor imunitare mediate prin celule.

Formarea anticorpilor are loc la nivelul plasmocitelor, celule specializate care derivă din limfocitele B stimulate de antigen (cap. 2). Pentru a se realiza stimularea prin antigen a limfocitelor B, timus-independente, este necesară prezenţa unor alte limfocite, timus-dependente (limfocitele T) şi a macrofagelor (Miller şi Mitchell, 1969; Davies, 1969; Calman şi Chaperon, 1969).

În mod similar, în cadrul inducţiei stării de hipersensibilitate mediată celular (cap. 2 şi 7), au fost puse în evidenţă procese de colaborare între celule timus-dependente (T_1) şi limfocite periferice (T_2), care au ca rezultat sensibilizarea acestora din urmă.

Pe baza rezultatelor globale ale numeroaselor cercetări întreprinse în acest domeniu, se admite astăzi că o treaptă esenţială a răspunsului prin anticorpi o constituie colaborarea între limfocitele T derivate din timus şi limfocitele B, timus-independente. Unele investigaţii (Feldman şi Basten, 1971—1972; Wilson şi Feldman, 1972) au arătat însă că anumite antigene pot imuniza direct limfocitele B; acesta este cazul poliozidelor antigenice mari, care conţin determinanţi antigenici care se repetă, ca flagelina polimerică obţinută de la *Salmonella adelaide* (POL), sau conjugat haptenic DNP—POL, rezultat din cuplarea haptenei dinitrofenol (DNP) cu polimerul flagelinic (POL). Asemenea poliozide cu structuri repetate au capacitatea de a rămîne fixate timp îndelungat pe limfocitele B, realizînd imunizarea; aceasta spre deosebire de antigenele cu un singur determinant care, cu toate că reacţionează la suprafaţa celulei B, nu rămîn fixate, ci trec rapid în mediul ambiant împreună cu molecula imunoglobulinică pe care se fixaseră la suprafaţa limfocitului (Wilson şi Feldman, 1972). Astfel, în funcţie de structura fizico-chimică a „purtătorului" său macromolecular, un acelaşi determinant antigenic (ca DNP) va reacţiona cu receptorii imunoglobulinici de pe suprafaţa celulelor B fie

Scanned with OKEN Scanner

temporar şi deci neimunogen, fie de durată, în mod imunogen (Greaves, 1970).

Procesul de cooperare T—B are rolul de a asigura contactul de durată a părţii haptenice a antigenului cu suprafaţa celulei B, probabil prin fixarea prealabilă a părţii mari „purtătoare", a antigenului pe celula T. Această fixare a părţii purtătoare a antigenului nu este realizată numai de celulele T, ci şi de macrofage, ceea ce sugerează că locul de inducţie imună poate fi la suprafaţa fagocitelor (Feldman şi Basten, 1972), pentru care celulele B manifestă o afinitate marcată (Schmidtke şi Unanue, 1971).

Procesele metabolice care însoţesc răspunsul imun primar constituie substratul mecanismelor imune la nivel subcelular. Ele au fost abordate prin studii care, folosind aminoacizi marcaţi radioactiv (Green şi Anker, 1955; Taliaferro şi Talmage, 1955—1957; Kern şi colab., 1969), au constatat că aceşti aminoacizi sînt încorporaţi în moleculele de anticorpi în cursul procesului de imunizare. Aceste observaţii au demonstrat că formarea anticorpilor reprezintă o sinteză nouă de proteine, ceea ce presupune transcripţia în RNA-mesager (Jacob şi Monod, 1961), a unui cod particular, corespunzător moleculei anticorpice de sintetizat, urmată de traducerea acestei informaţii într-un lanţ polipeptidic şi, în final, asamblarea şi eliberarea moleculei de anticorp.

După cum este cunoscut (cap. 2), imediat după fixarea antigenului, limfocitul stimulat răspunde prin proliferare celulară însoţită de diferenţiere, ceea ce înseamnă —în ultimă analiză—sinteză de DNA. În acest sens, încă din 1957, Dutton a semnalat că stimularea cu antigen a celulelor splenice cultivate *in vitro* se însoţeşte de sinteză de DNA (constatată prin încorporarea de ^{3}H-timidină). Date similare au fost obţinute de către Mach şi Vassali (1965) în cadrul unor cercetări pe şobolani injectaţi cu un amestec de *Hemophyllus pertussis* şi eritrocite de oaie. La 5 ore după prima inoculare a antigenului se observă o creştere masivă a sintezei DNA în celulele splenice şi ale ganglionilor limfatici. Concomitent cu intensificarea sintezei DNA se observă şi o activare masivă a metabolismului nucleotidic, care furnizează materia primă necesară sintezei de DNA. În studii cantitative asupra timidin-kinazei, Raska şi Cohen (1967) observă că la 4—5 ore de la o primă injecţie cu eritrocite de oaie la şoarece apare o activare importantă a enzimei. Această activitate continuă să crească timp de 48 de ore de la administrarea antigenului; dacă înainte de injecţie activitatea era în jurul a 1μM TMP/mg proteină, la 48 de ore devine echivalentă cu 3,5 μM TMP/mg proteină.

Intensificarea sintezei de DNA este însoţită de o creştere corespunzătoare a sintezei de RNA şi de proteine. Raportat la cantitatea de DNA nou sintetizată, RNA produs în aceste condiţii reprezintă 75% (Mach şi Vassalli, 1965). Compoziţia bazelor nucleotidice ale RNA sintetizat indică o mare proporţie de RNA ribosomal; analiza prin ultracentrifugare în gradient sucrozic a evidenţiat însă prezenţa de RNA cu coeficiente de sedimentare 12 S şi 6 S, care — după izolare şi purificare — s-au dovedit a avea o compoziţie nucleotidică apropiată de cea a DNA şi capacitatea de a stimula sinteza proteică. Aceste fracţiuni RNA, complementare cu DNA şi cu turnover rapid, corespund caracterelor biologice ale RNA-mesager.

Scanned with OKEN Scanner

Lazda şi colab. (1968), cercetînd efectul antigenelor flagelare asupra sintezei RNA în celulele splenice, obţin rezultate similare: o intensificare a sintezei de RNA, care se observă atît în fracţiunea ribosomală, cît şi în fracţiunile de mRNA (între 6 şi 12 S). RNA cu gradiente de sedimentare 18 S şi 8—12 S, izolate la 2 zile de la administrarea antigenului, sînt complementare cu DNA genomic (formează hibrizi moleculari DNA/RNA) (Cohen, 1967). Cantitatea de RNA complementară cu DNA genomic creşte, la 48 de ore după introducerea antigenului, de la 0,38 la 0,48%, ceea ce arată că procesul de imunizare nu conduce numai la creşterea sintezei de RNA ordinar, ci şi la producerea de RNA diferit, aşa cum rezultă din analiza compoziţiei bazelor sale nucleotidice. Sinteza acestui RNA „diferit" este inhibată de actinomicina D (Uhr şi Finkelstein, 1965) şi de derivaţii hidrazonici ai rifamicinei SV (Păunescu, 1971), antibiotice care blochează procesele de transcripţie celulară.

Aceste date sugerează că RNA „diferit", nou sintetizat, poartă informaţia specifică ce poate induce, la nivelul ribosomilor, sinteza de imunoglobuline modificate, capabile să reacţioneze cu antigenul corespunzător, care a declanşat proliferarea celulară şi diferenţierea.

Un RNA cu proprietăţi similare este sintetizat şi în macrofagele care au înglobat şi prelucrează antigenul. Extractele de macrofage ce conţin un astfel de RNA, cu greutate moleculară mică (Gottlieb, 1968) şi rezultat dintr-o sinteză nouă (Bishop şi colab., 1967), sînt capabile să inducă producerea de anticorpi în celule de ganglioni limfatici normali (Fishman şi Adler, 1963). Asemenea extracte macrofagice conţin şi resturi de antigen (Askonas şi colab., 1968), care ar putea justifica potenţialul lor imunogen; însă tratarea extractelor cu ribonucleoză duce la neutralizarea capacităţii lor imunogene, ceea ce sugerează rolul acestui RNA — singur sau cuplat cu restul de antigen — în inducţia sintezei de anticorpi (Cohen şi colab., 1965; Abramoff şi Brien, 1968). Descoperirea recentă a sistemului enzimatic de transcripţie inversă, de la RNA la DNA (Temin şi Mizutani, 1970; Baltimore, 1971; cap. 2), a condus la ipoteza conform căreia acest RNA macrofagic, nou sintetizat în prezenţa determinanţilor antigenici şi purtînd informaţia acestor determinanţi, ar trece în limfocit şi — prin transcripţie inversă — ar include această informaţie în DNA genomic al limfocitului (Scolnick şi colab., 1971; Baltimore, 1971; cap. 2).

Oricare ar fi mecanismul de producere şi locul de formare al RNA sintetizat după administrarea antigenului, capacitatea sa de a declanşa sinteza de anticorpi specifici pentru antigenul stimulant a fost demonstrată (Cohen, 1968). S-a constatat că RNA extras din splina şi ganglionii limfatici ai unui organism imunizat este capabil să inducă sinteza de anticorpi specifici în culturi de celule limfoide prelevate de la organisme normale (Cohen şi Parks, 1964; Friedman, 1964; Friedman şi colab., 1965; Askonas şi Rhodes, 1965; Adler şi colab., 1965; Cohen şi colab., 1965; Abramoff şi Bren, 1968). Un preparat RNA obţinut din splină de şoarece imunizat converteşte un mic procent de celule splenice izologe neimune în celule formatoare de antiorpi (Cohen şi Parks, 1964). După expunere la un extract ribonucleazo-sensibil obţinut de la şoareci imunizaţi cu eritrocite de oaie, celulele splenice de la şoareci neimunizaţi produc hemolizine (Friedman, 1964).

Scanned with OKEN Scanner

Aşa cum s-a menţionat, au fost identificate două fracţiuni RNA nou-sintetizate ce poartă informaţia pentru sinteza anticorpilor: una între 8 şi 12S, alta în jur de 18S. Cercetări ulterioare au demonstrat că aceste fracţiuni de mRNA corespund structurilor active în sinteza lanţurilor L şi H imunoglobulinice (Williamson şi Askonas, 1967), şi anume: mRNA ce sedimentează la 9—11 S este asociat cu polisomii care sintetizează lanţurile L, iar mRNA ce sedimentează la 14—16 S se leagă de polisomii care sintetizează lanţurile de H (Shapiro şi colab., 1966).

Cele 2 tipuri (L şi H) de lanţuri polipeptidice, care prin unire formează moleculele de imunoglobulină (cap. 4), sînt deci sintetizate separat. Cercetările întreprinse de mai mulţi autori (Shapiro şi colab., 1966; Askonas şi colab., 1965—1968) au evidenţiat faptul că lanţurile L se sintetizează la nivelul polisomilor sedimentabili la 190 S, în timp ce lanţurile grele la nivelul polisomilor 270 S. Odată sintetizate, lanţurile L sînt eliberate intracelular, pe cînd lanţurile H nu pot fi identificate libere, intracelular. Datele obţinute sugerează că, după sinteza poliribosomală, lanţurile L sînt eliberate şi se fixează pe polisomii 270 S care sintetizează lanţurile H fără a le elibera; numai după fixarea lanţurilor L pe aceşti poliribosomi are loc şi eliberarea lanţurilor H, sub formă de moleculă imunoglobulinică asamblată.

Tot la nivelul ribosomilor, înainte de a fi detaşate, moleculele de anticorpi cuplează şi fragmentele glucidice care le caracterizează. Aceste fragmente sînt fixate diferenţiat: glucozamina şi galactoza sînt încorporate încă din faza iniţială, în timp ce acidul sialic abia la sfîrşitul sintezei, înainte de secreţia moleculei de anticorp (Swenson şi Kren, 1968). Această fixare tardivă a acidului sialic pe molecula de Ig sugerează o corelare cu procesul de secreţie a anticorpilor. În acelaşi sens pledează şi analizele cromatografice şi electroforetice ale Ig intracelulare şi extracelulare: fixarea anumitor fragmente glucidice are loc în cursul procesului de secreţie extracelulară (Melchers şi Knopf, 1967).

B. MEMORIA IMUNOLOGICĂ

EUG. PĂUNESCU

Conceptul de „memorie imunologică" a rezultat din constatarea că un organism, care a mai venit în contact cu un anumit antigen, la un nou contact cu acesta răspunde imun mult mai repede şi mai intens.

Analiza cineticii răspunsului la antigen (fig. 21) arată că, după prima administrare a antigenului, organismul nu prezintă modificări decelabile în serul sanguin timp de 6—14 zile (perioada de „latenţă"), pentru ca, după trecerea acestui interval, în ser să se poată pune în evidenţă anticorpi specifici faţă de antigenul administrat. În următoarele zile, titrul anticorpilor creşte uşor, pentru ca apoi să urmeze un declin al titrului. Aceasta este cinetica „răspunsului primar" prin anticorpi.

Scanned with OKEN Scanner

O a doua administrare a antigenului produce un răspuns care se deosebeşte de răspunsul primar printr-o serie de caractere cinetice: perioada de latenţă este mult mai scurtă (2—3 zile), creşterea concentraţiei anticorpilor în ser este explozivă, iar titrul maxim depăşeşte cu mult pe cel din răspunsul primar (fig. 21). Acest al doilea răspuns („secundar")

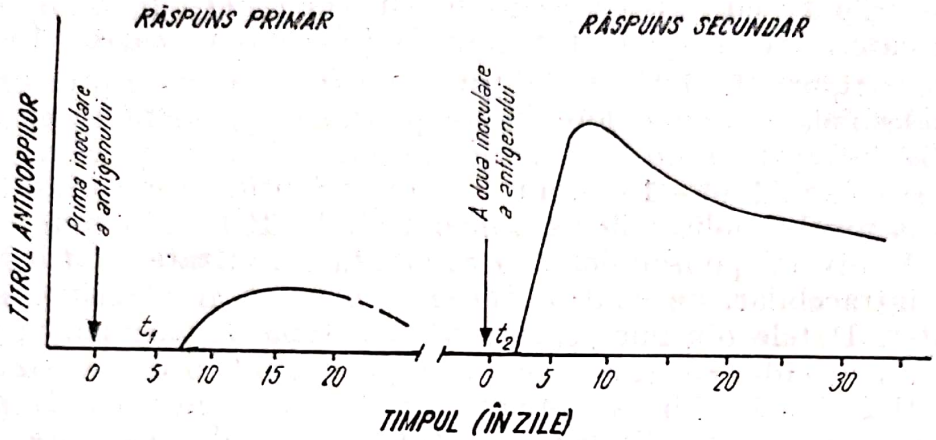


Fig. 21. — Dinamica răspunsurilor imune primar şi secundar.

este denumit răspunsul „anamnestic", deoarece totul se petrece ca şi cum organismul îşi „aminteşte" de antigenul cu care a venit anterior în contact. Memoria imunologică pozitivă care rezultă din caracterele răspunsului secundar este deci demonstrată prin rapiditatea şi intensitatea mult mai crescută a anticorpilor puşi în libertate după cel de-al doilea stimul antigenic.

1) CARACTERISTICILE MEMORIEI IMUNOLOGICE

Un număr important de experimente efectuate în ultimile 5—6 decenii au evidenţiat anumite aspecte legate de memoria imunologică. Printre acestea pot fi amintite cele care au investigat rolul vîrstei, al tipului şi taliei antigenului etc., precum şi caracterele de durată şi specificitate ale memoriei imunologice. Un loc special deţin cercetările din ultimii ani întreprinse pentru evidenţierea mecanismelor celulare şi subcelulare ale memoriei imunologice.

Cercetările lui Wolfe şi colab. (1960), efectuate pe pui de găină, au arătat că vîrsta organismelor condiţiona obţinerea unui răspuns secundar prin readministrarea aceluiaşi antigen. De exemplu, păsările care au primit primul stimul antigenic la vîrsta de 20 de zile nu prezentau răspuns anamnestic dacă erau restimulate la vîrsta de 6, 12 sau 22 de săptămîni. În cazul cînd prima inoculare se făcea la 6 săptămîni, răspunsul secundar se putea obţine variabil la 12 şi 22 de săptămîni. În sfîrşit, dacă prima imunizare se efectua la organisme în vîrstă de 12 săptămîni, răspunsul secundar (anamnestic) se putea obţine cu precizie la 22 de săptămîni.

Experienţe similare, efectuate însă cu antigen particulat (hematii de oaie), administrat la şoareci de diferite vîrste, au fost realizate de către Makinodan şi Peterson (1966). În aceste condiţii, cercetătorii au constatat

că animalele tinere dădeau un răspuns anamnestic foarte slab, cele adulte un răspuns intens, iar cele bătrîne (în vîrsta de 64 de săptămîni) un răspuns secundar de intensitate intermediară.

Cercetînd relaţia dintre doza de antigen administrată şi intensitatea răspunsului anamnestic, Jilek şi Sterzl (1967) compară şi titrul aglutininelor şi hemolizinelor obţinute după administrarea de hematii de oaie. Cercetătorii constată că răspunsul imun dă titruri din ce în ce mai mari, pentru ambele tipuri de anticorpi, dacă se măreşte doza de antigen administrată. Răspunsul imun anamnestic (secundar) arată însă o diferenţiere a celor 2 tipuri de anticorpi: dacă răspunsul primar fusese intens, o aceeaşi doză de hematii readministrate duce la un titru mare de aglutinine, dar la un titru redus de hemolizine. Aceste constatări par interesante, însă interpretarea lor este dificilă din mai multe cauze: natura complexă a antigenului folosit, numărul mare al tipurilor de molecule de anticorpi detectate în cursul reacţiilor de titrare şi prezenţa unor mecanisme feedback de reglare la animalele intacte (Abramoff şi La Via, 1970).

Analiza comparativă a cineticii răspunsului imun primar şi secundar (fig. 21) evidenţiază faptul că — o aceeaşi doză de antigen — provoacă un răspuns imun (anticorpic) mult mai important în cazul reacţiei anamnestice. Creşterea eficienţei antigenelor (în special a celor solubile) în cazul răspunsului secundar trebuie corelată cu numărul crescut de celule sensibile la antigen (vezi p. 54), ca şi de prezenţa în organism a unor mici cantităţi de anticorpi circulanţi (induşi ca urmare a primei inoculări a antigenului). Aceşti anticorpi circulanţi vor forma cu antigenul un complex, care va fi mult mai antigenic decît antigenul singur, mai ales dacă acest complex acţionează în prezenţa unui exces de antigen (Sell şi Weigle, 1959).

Durata memoriei imunologice este remarcabil de lungă; după aprecierile lui Gottlieb şi colab. (1964), memoria imunologică, cel puţin pentru toxinele bacteriene, trebuie considerată pentru toată viaţa. În acest sens, încă din 1921, Glenny constată prezenţa memoriei imunologice intactă la cobai după un an de la administrarea unei singure doze de anatoxină difterică. La om, reacţia anamnestică la anatoxina tetanică poate fi obţinută şi după 10 ani de la prima administrare (Gottlieb).

Răspunsul anamnestic este specific pentru determinanţii antigenici folosiţi la prima inoculare (Dixon şi Maurer, 1955): un răspuns secundar nu se poate obţine decît cu antigenul folosit pentru prima administrare sau cu antigene care au determinanţi similari („reacţii încrucişate"). La analiza rezultatelor obţinute pentru un răspuns imun este dealtfel obligatoriu să se ţină seama de determinanţii antigenici ai acestuia şi de posibilitatea de a se realiza reacţii încrucişate chiar de la „prima" inoculare a antigenului. Acesta pare să fie cazul, spre exemplu, atunci cînd se administrează la om o primă injecţie de antigen polizaharidic pneumococic. Aceasta induce de regulă un titru anticorpic înalt, care persistă multe luni de zile, ceea ce este caracteristic pentru răspunsul secundar. Dealtfel, o a doua inoculare a polizaharidului pneumococic nu produce un răspuns secundar tipic (Heidelberger şi colab., 1946). Aceste date ne obligă să gîndim că organismul uman adult, care are toate condiţiile să fi venit anterior în contact cu pneumococi, chiar dacă nu a făcut boala manifestă,

Scanned with OKEN Scanner

răspunde de tip anamnestic la o primă injecţie de polizaharid pneumococic.

O situaţie similară a fost raportată de către Jerne şi colab. (1963) la un lot de şoareci, care — deşi inoculaţi pentru prima oară cu hematii de oaie — răspundeau imun de tip anamnestic. Un control detaliat al lotului a demonstrat însă că — fără nici o inoculare prealabilă de hematii de oaie — splinele acestor animale prezentau un mic număr de celule sensibilizate anti-hematiii de oaie. S-a conchis deci că era vorba, în acest experiment, de un contact prealabil, necunoscut, al animalelor cu substanţe ce deţin determinanţi antigenici similari cu cei ai hematiilor de oaie. Existenţa unor asemenea determinanţi „încrucişaţi" este dealtfel bine precizată în prezent şi, în cazul „antigenelor Forsmann" (cap. 3), determinanţi antigenici comuni au fost semnalaţi la un număr mare de specii, mult diferenţiate între ele.

Specificitatea memoriei imunologice, în special în primele perioade ce urmează răspunsului primar, este net diferenţiată pentru determinanţii „purtătorului" antigenic (cap. 3). Acest proces este uşor evidenţiabil în cazul cînd „purtătorul" (proteina A) este cuplat cu o haptenă (DNP). În primele două luni de la inocularea antigenului complet (DNP-proteină A) este posibil să se producă un răspuns anamnestic numai prin inocularea aceluiaşi antigen complet, în timp ce inocularea haptenei cuplată cu alt purtător (DNP-proteină B) nu duce la declanşarea răspunsului secundar (Paul şi colab., 1967), cu toate că anticorpii rezultaţi din răspunsul imun au specificitate atît faţă de haptenă, cît şi faţă de „purtător". După două luni de la provocarea răspunsului primar devine însă posibil să se inducă răspunsul secundar şi cu ajutorul antigenelor cu haptenă comună şi „purtător" diferit.

Un comportament oarecum similar a fost evidenţiat şi în cazul imunoglobulinelor-anticorpi (Uhr şi Finkelstein, 1963, 1967). În prima perioadă de la introducerea unui antigen (solubil sau particulat) are loc un răspuns prin anticorpi de tip 19 S; ulterior apar anticorpii de tip 7 S (cap. 4) şi, pe măsură ce titrul acestora creşte, scade titrul anticorpilor 19 S.

Răspunsul secundar este însoţit de obicei de producţia largă de anticorpi 7 S, fapt care a făcut să se considere că „memoria" imunologică este strîns corelată cu anticorpii 7 S (Abramoff şi La Via, 1970). S-a demonstrat însă, pentru unele antigene particulate virale ca fagul Ø X 174 (Uhr şi Finkelstein, 1963) sau poliovirusul (Svehag şi Mandel, 1964), că răspunsul secundar poate fi şi cu anticorpi 19 S. Similar, rezultatele obţinute de către Nossal şi colab. (1964) cu flageli de *Salmonella* şi cele ale lui Porter (1966) cu albumine serice au demonstrat că, în funcţie de tipul antigenului şi starea sa (agregat sau solubil), de doză, de calea de administrare şi de organismul imunizat, prima fază a răspunsului imun primar se realizează cu anticorpi 19 S, în timp ce răspunsul secundar, se însoţeşte de obicei de anticorpi 7 S şi mult mai rar de anticorpi 19 S.

Specificitatea diferenţiată pentru „purtătorul" antigenic şi răspunsul anticorpic de tip 19 S, care caracterizează prima fază a răspunsului imun primar, şi care sînt urmate de specificitatea pentru haptenă şi producerea de anticorpi 7 S în cadrul răspunsului secundar (anamnestic),

Scanned with OKEN Scanner

au fost interpretate—pe baza investigaţiilor din ultimii ani (cap. 2)—ca rezultatul unor selecţii celulare. Ele au condus la identificarea limfocitelor T ca celule de memorie şi la evidenţierea cooperării T—B ca mecanism al răspunsului imun.

2) MECANISMELE CELULARE ALE MEMORIEI IMUNOLOGICE

Eterogenitatea anticorpilor prezenţi în serul prelevat la un anumit interval de timp după administrarea antigenului este considerată ca o reflectare a amestecului de produse a două populaţii distincte de celule formatoare de anticorpi: unele care produc anticorpi 19S (cu afinitate pentru antigenul complet), altele care produc anticorpi 7S (cu afinitate mare atît pentru antigenul complet, cît şi pentru haptenă) (Eisen, 1966). La începutul procesului de imunizare domină populaţia de celule care produc anticorpi 19S, pentru ca ulterior să prevaleze populaţia ce produce anticorpi 7S. După Eisen, valoarea raportului cantitativ antigen/anticorpi este cea care stimulează selecţia populaţiilor de celule formatoare de anticorpi. Imediat după introducerea antigenului vor fi stimulate celulele producătoare de 19 S, deoarece aceste imunoglobuline (Ig M) pot fixa doze mari de antigen complet; ulterior, cînd nivelul antigenului circulant scade, celulele formatoare de Ig 7S vor fi mult mai competitive în preluarea antigenului şi vor fi astfel selectiv stimulate, ducînd — prin diviziune — la multiplicarea masivă a celulelor care sintetizează Ig S, cu specificitate haptenică accentuată.

Cercetări relativ recente (Claman şi colab., 1966; Davies, 1968; Miller şi Mitchell, 1969) au identificat cele două tipuri de populaţii celulare care participă la recunoaşterea antigenului şi producerea anticorpilor ca fiind limfocitele T şi limfocitele B (cap. 2). Limfocitele B, direct derivate din măduva osoasă, sînt celulele precursoare ale plasmocitelor formatoare de anticorpi 7S; limfocitele T, timus-dependente, cooperează cu celulele B la producerea anticorpilor şi, un anumit procent de celule T, sînt efectoare în reacţiile imunitare mediate celular.

Limfocitele B prezintă la suprafaţa lor variate tipuri de Ig 7S (Vitetta şi colab., 1971), care pot fi uşor puse în evidenţă (Raff, 1970) şi care servesc ca receptori specifici pentru antigen (Greaves, 1970), în timp ce limfocitele T activate imunologic prezintă receptori pentru antigene care conţin determinanţi atît de tipul lanţurilor uşoare (L), cît şi grele (H), acestea din urmă însă numai de tipul μ (Greaves şi Hogg, 1971). Dacă fixarea antigenului pe aceşti receptori se face multivalent (Raff, 1972), atunci ea duce la o redistribuire a moleculelor de receptori, la aglomerarea acestora către uropod (realizînd formaţiunea de „bonetă") (cap. 2), urmată de pinocitare şi stimularea celulei pentru transformare blastică şi mitoză, ceea ce duce la multiplicarea celulelor efectoare ale imunităţii mediată celular (limfocite sensibilizate, T_2) sau mediată prin anticorpi (plasmocite).

Pe baza datelor care au arătat că limfocitele capabile să fixeze (multivalent) antigenul formează rapid efectori (umorali şi / sau celulari) ai răspunsului imun, s-a ajuns la concluzia că substratul memoriei imunologice îl constituie capacitatea limfocitelor activate imunologic de a reţine specific antigenul.

Scanned with OKEN Scanner

Capacitatea de a fi stimulate prin fixarea antigenului este demonstrabilă atît în cazul limfocitelor T, cît şi a celor B. Astfel, Möller şi Mäkelä (1972), folosind o suspensie de celule splenice de la un şoarece imunizat cu hematii, constată că aceste celule pot forma „rozete" şi pot hemoliza hematiile-antigen atît după tratarea suspensiei cu ser anti-θ (care distruge celulele T şi permite să intre în reacţie numai limfocitele B), cît şi după tratarea suspensiei cu ser anti-limfocite B (care permite să intre în reacţie numai limfocitele T).

Fixarea antigenului specific atît pe celulele B, cît şi pe cele T poate fi demonstrată şi prin metoda afinităţii cromatografice, practicată pe coloane în care antigenul este cuplat la adsorbant. Pe asemenea coloane sînt reţinute atît limfocitele T, cît şi cele B, dacă provin de la organisme imunizate cu antigenul respectiv (Andersson, 1972), ceea ce demonstrează existenţa „memoriei" imunologice la ambele tipuri de limfocite activate.

Există totuşi diferenţe, care ar putea avea o semnificaţie deosebită, între reactivitatea celor două tipuri de limfocite. Astfel, spre exemplu, în cazul răspunsului secundar la conjugaţi haptenă-proteină, celulele T prezintă specificitatea pentru purtător, în timp ce limfocitele B sînt mult mai specifice pentru haptenă (Mitchison, şi colab., 1970; Rajewsky şi colab., 1969; Katz şi colab., 1970). De asemenea, chiar dacă în cazul anumitor antigene (haptene cuplate cu hematii) specificitatea pentru purtător a celulelor T poate fi blocată prin haptenă, sînt necesare concentraţii mari de haptenă pentru realizarea blocării (Möller şi Mäkellä, 1972).

Pe de altă parte, inducţia toleranţei la haptenă pare să cauzeze o inactivare selectivă a reactivităţii la antigen a celulelor T, păstrînd intactă capacitatea limfocitelor B de a fixa antigenul (Möller şi colab., 1971), ceea ce obligă să se acorde limfocitelor T un rol particular în procesele de toleranţă, adică de memorie imunologică „negativă". Rolul particular al celulelor T în capacitatea de fixare a antigenului rezultă şi din faptul că aceste celule reacţionează specific cu antigenul înainte de a avea loc cooperarea cu celulele B (Müller şi Mitchell, 1968 —1969). Există dealtfel numeroase date experimentale (Cohen şi Claman, 1971; Anderson, 1972) care sugerează puternic că, în cadrul cooperării T—B, celulei T îi revine rolul de a fixa antigenul şi de a-l „prezenta" în subsidiar celulelor B, care devin astfel stimulabile (Iverson, 1972).

În sfîrşit, faptul că celula T imună, dacă este pusă în prezenţa antigenului corespunzătoare eliberează mediatori celulari care pot sensibiliza şi alte limfocite faţă de antigenul respectiv (cap. 2 şi 6), argumentează de asemenea în favorarea unei poziţii speciale deţinute de limfocitele T în cadrul proceselor de memorie imunologică.

Rezultatele cercetărilor întreprinse în ultimii ani au confirmat deci faptul că memoria imunologică este strîns corelată cu activitatea populaţiilor de limfocite mici T şi B, care pot răspunde accelerat şi cu mai mare intensitate la contactul cu antigenul. În cadrul răspunsului secundar (anamnestic) procesul de cooperare T—B pare să deţină un rol efectiv, mijlocind stimularea prin antigenul specific a limfocitelor de tip B (respectiv T_2) pentru amplificarea numerică a celulelor efectoare imunologic.

Scanned with OKEN Scanner

3) TRANSCRIPŢIA METABOLICĂ ŞI MEMORIA IMUNOLOGICĂ

În ultimă analiză, procesul de memorie imunologică apare ca rezultat al unei creşteri a numărului de celule care sînt capabile să recunoască antigenul. Se ridică astfel întrebarea: pe ce cale se ajunge la un asemenea rezultat? În principal, două ipoteze pot fi emise pentru explicarea procesului: una bazată pe principiul darwinian al selecţiei accelerate; a doua bazată pe procese de inducţie metabolică.

Ipoteza selecţiei accelerate, al cărei promotor trebuie considerat Jerne (1970), consideră că, prin intermediul structurilor genetic determinate ale imunoglobulinelor de la suprafaţa limfocitelor, acestea devin capabile să recunoască şi să fixeze orice antigen (natural sau sintetic); odată cu recunoaşterea şi fixarea, limfocitul respectiv intră în mitoză şi dă naştere unui număr mare de celule identice (clonă), capabile la rîndul lor să reacţioneze cu antigenul. Ulterior, orice nou contact al organismului cu antigenul va conduce la o multiplicare accelerată (explozivă chiar) a celulelor din clona limfocitară selecţionată de primul contact cu antigenul.

Ipoteza inducţiei metabolice acceptă selecţia iniţială prin antigen, însă nu o consideră ca rezultat al existenţei la suprafaţa limfocitului de structuri strict determinate genetic pentru un anumit tip de antigen. Ipoteza metabolică concepe fixarea iniţială a antigenului la suprafaţa limfocitului ca rezultat al reacţiei simultane dintre molecula antigenică şi mai multe lanţuri imunoglobulinice care „flotează" la suprafaţa limfocitului (cap. 2). În acest fel, condiţia de reacţie la nivelul celulei limfocitare nu constă în predeterminarea genetică pentru un anumit tip de antigen, ci ea apare statistic determinată: fixarea are loc dacă în imediata vecinătate a punctului de contact dintre molecula de antigen şi suprafaţa limfocitului se vor afla, pe acesta din urmă, mai multe lanţuri imunoglobulinice care să poată reacţiona simultan cu antigenul. Acest proces presupune o rearanjare a structurilor imunoglobulinice la suprafaţa limfocitului şi o aglomerare a unora dintre acestea la nivelul zonei de contact cu antigenul. Aglomerarea rezultată duce în final la declanşarea procesului de endocitare a antigenului (cap. 2), care este controlat pe cale metabolică.

Odată ajuns în citoplasmă, antigenul va fi supus proceselor metabolice de analiză şi catabolism, care vor permite descifrarea informaţiei antigenice şi codificarea ei în genomul celulei imunocompetente. În acest fel, celula care deţine informaţia genetică adaptată pentru antigen, va da, prin diviziune, celule identice, posesoare ale informaţiei despre antigen; iar acestea, la rîndul lor, vor putea rapid recunoaşte antigenul la un ulterior contact.

După cum se poate remarca, atît ipoteza selecţiei accelerate, cît şi cea metabolică pornesc de la un acelaşi punct: fixarea antigenului la suprafaţa limfocitului, endocitarea antigenului şi proliferarea limfocitului stimulat. Ceea ce aduce în plus ipoteza metabolică este explicarea mecanismului de fixare în genom a memoriei imunologice, reprezentată printr-o descifrare şi codificare inversă, în genomul limfocitului, a informaţiei antigenice.

Un astfel de proces presupune intervenţia acizilor nucleici şi a sistemelor celulare de transcripţie, mecanisme care permit realizarea unor modificări în genom sub influenţa anumitor factori externi. În acest sens,

Scanned with OKEN Scanner

încă din 1960, pe baza analizei datelor cunoscute, Păunescu ajunge la concluzia că „sinteza macromoleculelor cu potențial de matrice (inclusiv aceea a DNA) este supusă influenței metabolismului celular" (fig. 22); „inducerea unor astfel de modificări afectează structura matricei care servește pentru transmiterea caracterelor ereditare, ceea ce are ca rezultat modificarea caracterelor transmise la descendenți" (Păunescu, 1960). Ulterior, Temin (1963) arată că, pentru a se putea înțelege biologia virusurilor RNA tumorale, trebuie să se admită existența unui mecanism de transcripție inversă, de la RNA (viral) la DNA. Odată cu descoperirea polimerazei DNA dependentă de RNA (*transcriptaza inversă*) a devenit posibilă înțelegerea mecanismelor de includere în genomul celular a unei informații noi, provenită din afară (Baltimore, 1970; Temin și Mizutani, 1970).

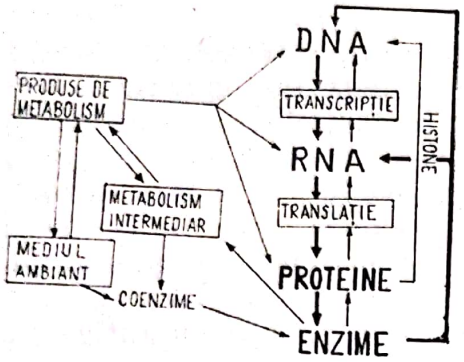


Fig. 22. — Schema interacțiunilor metabolice în cursul sintezei macromoleculelor celulare.

Procesul de transcripție inversă, demonstrat pentru virusurile RNA infectante (Baltimore, 1971) (cap. 2), presupune existența unui RNA modificat care, în prezența polimerazei DNA dependentă de RNA, poate realiza includerea în DNA monocatenar pe cale de sintetizare a informației noi pe care o aduce RNA matriceal.

În cazul memoriei imunologice poate fi gîndit un proces similar (Scolnick și colab., 1971): ca urmare a includerii în citoplasmă a moleculei antigenice, în cursul metabolizării acesteia, un RNA special sintetizat poate capta informația situsurilor antigenice pe care, ulterior, în cursul desăvîrșirii transformării blastice, o va transmite în replică moleculei DNA (integrare genomică), după derepresia transcripției inverse.

În prezent, acest mecanism este numai în parte demonstrat în cazul proceselor imunitare. Astfel, spre exemplu, a fost pus în evidență faptul că, în cursul prelucrării metabolice a antigenului pinocitat, celula leucocitară sintetizează RNA, care poate fi evidențiat în citoplasmă (Malec și colab., 1961; Păunescu și colab., 1971). Acest RNA este cuplat cu resturile *nonself* (ce dețin informația antigenică) ale antigenului hidrolizat intrafagocitar, formînd un „complex RNA-antigen" puternic imunogen (Askonas și Rhodes, 1965), care — în contact cu celulele imunocompetente din ganglioni limfatici — induce producerea de anticorpi (Fishman și Adler, 1963). Dacă se operează o rupere a părții RNA din complexul RNA-antigen, capacitatea acestuia de a stimula memoria imunologică se reduce foarte mult (Askonas și Rhodes, 1965). De asemenea, oprirea sintezei RNA afectează formarea complexului RNA-antigen (Păunescu și colab., 1971) și instalarea memoriei imunologice (Păunescu, 1970).

Nu există însă, pînă în prezent, date certe care să ateste (sau să infirme) intervenția în procesele de memorie imunologică a transcripției inverse, de la RNA din complexul RNA-antigen la DNA al genomului limfocitelor. Urmează ca alte cercetări să elucideze acest punct, contribuind totodată la alegerea între ipoteza selecției accelerate și cea metabolică despre mecanismele memoriei imunologice.

C. RĂSPUNSUL IMUN SECUNDAR, CA REACȚIE ANAMNESTICĂ POZITIVĂ ACCELERATĂ

I. MESROBEANU și EUG. PĂUNESCU

Dacă la cîteva săptămîni (sau luni) de la o primă inoculare a antigenului se readministrează, la același organism, același antigen, se observă o creștere masivă a titrului de anticorpi chiar după 2—4 zile de la a doua inoculare a antigenului. Acest răspuns anticorpic intens, rezultat după o perioadă de latență scurtă, persistă timp îndelungat (fig. 21).

Perioada de latență scurtă, titrul înalt și persistent al anticorpilor produși constituie caracterele principale ale răspunsului secundar imun.

Răspunsul secundar imun poate fi obținut și cu antigene înrudite, care au comună partea haptenică, cu condiția ca între prima și a doua administrare a antigenelor să existe o perioadă de timp suficient de lungă. Un experiment elocvent în acest sens a fost întreprins de Paul și colab. (1967) la iepuri imunizați cu DNP—BGG (haptena DNP conjugată cu gammaglobulină bovină). Dacă după două luni de la prima administrare a antigenului se inoculează DNP—OVA (haptena DNP conjugată cu ovalbumină) nu se obține un răspuns secundar imun; în schimb, dacă antigenul înrudit DNP—OVA se administrează după 5 luni de la inocularea de DNP—BGG, atunci are loc o dezvoltare a răspunsului imun secundar. Acest experiment demonstrează că, dacă de la prima inoculare a antigenului perioada de timp este suficient de lungă pentru ca selecția celulară să se desfășoare din plin, devine posibilă ștergerea specificității pentru „purtătorul" haptenic, proprietate dominantă în cadrul răspunsului primar.

La nivel celular, capacitatea de răspuns secundar imun este legată de constituirea celulelor „precursoare" plasmocitelor, deci de sensibilizarea limfocitelor B la partea haptenică a antigenului. Prima expunere la antigen duce, în cîteva zile, la apariția unui mic număr de celule B „precursoare"; prin proliferarea acestora se ajunge la formarea unui număr nu prea mare de plasmocite, care produc o cantitate relativ modestă de anticorpi circulanți. Ulterior, la un nou contact cu antigenul, celulele „precursoare" existente suferă o stimulare directă, care are ca rezultat proliferarea masivă și maturarea unui mare număr de plasmocite, celulele formatoare de anticorpi.

Titrul anticorpic înalt și persistent, caracteristic răspunsului secundar imun, este explicat nu numai prin cantitatea mai mare de anticorpi produși, ci și prin calitatea lor modificată: spre deosebire de anticorpii „timpurii" (din prima perioadă a răspunsului imun primar), anticorpii produși ca urmare a stimulului antigenic secundar manifestă o *aviditate* mult mai mare pentru antigen. Jerne și Avegno (1956) au constatat că anticorpii produși în faza tardivă a răspunsului primar și în perioada răspunsului secundar manifestă o înaltă aviditate pentru antigen. Aviditatea anticorpilor este exprimată de constanta de asociere a unei molecule de anticorpi cu antigenul (cap. 6) și cercetări ulterioare (Eisen și Siskind, 1964) au arătat că populațiile de anticorpi sintetizate ca urmare a inocu-lării unui antigen haptenic (cuplat cu DNP) manifestă o mai mare afinitate pentru antigen în cursul răspunsului secundar, ceea ce corespunde

cu dominarea imunoglobulinelor-anticorpi 7S în perioada de răspuns secundar.

Aşa cum s-a menţionat, răspunsul primar imun obişnuit implică anticorpi de tip 19S care, ulterior, sînt urmaţi de apariţia anticorpilor de tip 7S, cu afinitate pentru haptenă. Aceşti anticorpi 7S sînt produşi cu precădere după instalarea memoriei imunologice.

Natura antigenului constituie un element deosebit de important pentru determinarea dinamicii anticorpilor circulanţi. Atît răspunsul primar, cît şi cel secundar diferă în funcţie de tipul de antigen : proteine solubile, polizaharide sau antigene, complexe particulate. Astfel, spre exemplu, inocularea unui *antigen proteinic* în soluţie declanşează, după 5—8 zile, apariţia de anticorpi IgM într-un titru redus (1/16), iar într-o fază mai tardivă apariţia de anticorpi IgG de asemenea într-o concentraţie slabă (1/32—1/64). Dacă, după 40 de zile, se repetă inocularea antigenului, răspunsul secundar, accelerat, se va concretiza prin o aceeaşi slabă concentraţie de IgM (1/16—1/32) însoţită de un titru înalt (1/4 000—1/32 000) de anticorpi IgG.

Tabelul nr. 12

Semiviaţa circulatorie a IgM şi IgG la cîteva specii de mamifere

Specia	Clasa de Ig	Semiviaţa (în zile)
Şoarece	IgM	0,5 (0,2—0,6)
	IgG	4 (1,8—14)
Şobolan	IgM	1,5
	IgG	6,7
Cobai	IgM	1,1 (0,9—1,6)
	IgG	5,5 (5—6)
Iepure	IgM	2,8—4
	IgG	5,5—9
Om	IgM	3,8—6,5
	IgG	21—26

În perioada de răspuns secundar, cînd proporţia de anticorpi IgG este dominantă, la evidenţierea unui titru anticorpic crescut contribuie şi faptul că semiviaţa IgG este mult mai mare decît cea a IgM (tabelul nr. 12).

Intensitatea slabă a răspunsului anticorpic primar este strîns corelată cu rapiditatea eliminării antigenului din organism ; studiile care au utilizat antigene proteinice marcate radioactiv (Lakin şi colab., 1969) au arătat că încă la 48 de ore de la administrare 90% din antigen este degradat şi eliminat din organism, iar după 15 zile nu se mai regăseşte mai mult de 0,5% din antigenul administrat. În acelaşi sens argumentează faptul că administrarea antigenului sub formă înrobată într-un adjuvant duce la prelungirea importantă a timpului de remanenţă în organism şi la o creştere de 4—12 ori a titrului de anticorpi produşi.

Polizaharidele constituie antigene particulare deoarece nu sînt metabolizate în fagocite. Ele pot deci determina un răspuns imunitar prelungit şi, în acest fel, pot declanşa apariţia unor titruri anticorpice deosebit de înalte. Astfel, spre exemplu, în timp ce titrul anticorpic produs de tuberculoproteină este redus (1/64—1/512), cel indus de tuberculopolizaharid este deosebit de mare (poate depăşi 1/100 000).

Anticorpii produşi la om şi la iepure prin imunizare cu polizaharide bacteriene capsulare sau cu antigenele somatice O şi Vi sînt de tip IgM.

Antigenele particulate (virusuri, bacterii, hematii etc.) induc o producţie de anticorpi mai precoce şi mai intensă decît cea care urmează

administrării unui antigen solubil. Anticorpii circulanți sînt atît de tip IgM (în special în faza inițială), cît și de tip IgG; dar titrul acestor anticorpi este destul de crescut și în special deosebit de persistent deoarece structurile celulare manifestă calități adjuvante.

La dinamica răspunsului imun nu contribuie, desigur, numai structura (și concentrația) antigenului administrat, ci și o serie de factori genetici și fiziologici ai organismului supus imunizării. Constituția genetică a organismului deține un rol fundamental în reglarea răspunsului imun; factorii genetici intervin în diferite faze ale răspunsului imun: recunoașterea antigenului, sinteza anticorpilor, structura moleculară a anticorpilor etc. (cap. 1 și 4). Faptul că dintr-o populație de indivizi unii sînt capabili să producă un răspuns imun de o anumită intensitate și cu predominanța unui anumit tip de anticorpi, a făcut posibilă selecționarea genetică de linii de animale care procură un răspuns imun constant, cu caractere bine cunoscute (Biozzi și colab., 1970).

Echilibrul hormonal al organismului poate interveni în controlul cineticii răspunsului imun (Batchelor, 1968).

Viteza de sinteză și persistența anticorpilor sînt însă reglate direct prin prezența anticorpilor ei înșiși. Administrarea pasivă de anticorp duce la inhibarea sintezei de noi anticorpi, fenomen datorit neutralizării antigenului stimulant. Există deci o relație directă între cantitatea de antigen prezentă în organism și producerea de anticorpi neutralizanți. Inhibiția producerii de anticorpi prin neutralizarea antigenului este de altfel folosită și în practică, pentru prevenirea formării de anticorpi anti-Rh (responsabili de anemia hemolitică a nou-născutului) prin administrarea pasivă la mamă de anticorpi anti-Rh (Clarke, 1966).

Reacții de răspuns imun accelerat, ca urmare a unui al doilea contact cu antigenul, au loc și în cazul imunității mediată celular. Astfel, spre exemplu, o primă grefă de piele provenind de la donatori alogeni este eliminată într-o perioadă medie de timp de 8—11 zile; o a doua grefare similară, la același organism, scurtează timpul de eliminare a grefonului la 3—5 zile. Eliminarea grefei este rezultatul unui proces imun, mediat celular (cap. 7 și 8), iar scurtarea timpului de latență în cazul celei de-a doua grefe echivalează cu un răspuns secundar imun și este datorită instalării memoriei specifice imunologice față de antigenele grefonului.

Proprietatea de a elimina grefa aparține limfocitelor din ganglionul limfatic ce drenează regiunea grefată: dacă asemenea celule sînt transferate la un organism normal, ele transferă și capacitatea de eliminare accelerată a unei grefe identice, aplicată organismului normal. O asemenea *imunizare adoptivă* nu poate fi în schimb realizată cu serul prelevat de la organismul ce a primit o grefă.

Transferul la organisme normale a unor celule limfoide sensibilizate (provenite de la organisme izologe imunizate în prealabil) asigură un răspuns imun accelerat nu numai în cazul transplantelor lor de organe (Billingham și colab., 1955), dar și în cazul unor alte forme de imunitate mediată celular, cum este hipersensibilitatea tuberculinică (cap. 7).

Scanned with OKEN Scanner

D. MEMORIA IMUNOLOGICĂ „NEGATIVĂ". TOLERANȚA IMUNOLOGICĂ

I. MESROBEANU și EUG. PĂUNESCU

Lipsa de răspuns imunologic a unui organism supus condițiilor în care un astfel de răspuns are loc în mod obișnuit este denumită „toleranță" imunologică.

Deși mecanismele intime ale „lipsei de răspuns imunologic" nu sînt în prezent bine elucidate, mai ales la nivel molecular, toleranța imunologică este socotită ca rezultatul unei memorii imunologice „negative" (Leskowitz, 1967). Această memorie „negativă" poate surveni prin absența elementelor ce asigură memorizarea imunologică (cazul „toleranței naturale") sau poate fi rezultatul blocării reactivității celulelor de memorie (cazul „toleranței imunologice dobîndite").

Toleranța naturală este evidentă în cazul țesuturilor proprii ale organismului, față de care acesta nu este capabil să dezvolte o „memorie imunologică". Lipsa de răspuns imunologic față de materialele proprii (*self*) se extinde și pentru o serie de antigene izogene : spre exemplu, albumina serică umană este foarte bine tolerată de către indivizii umani, chiar dacă organismele lor sînt alogenice. Spre deosebire însă de albumină, gammaglobulina este puternic antigenică, deoarece organismul uman posedă un sistem genetic (Gm-Inv) de determinare alotipică a gammaglobulinelor, ceea ce face ca globulinele unui individ să provoace răspuns imun la persoanele ale căror determinanți alotipici sînt diferiți.

Pentru explicarea capacității de răspuns imun al unui organism, Burnet și Fenner (1949) au emis teoria „self—nonself", conform căreia perioada de dezvoltare embrionară corespunde etapei ontogenetice primare, de incompetență imunologică. Potențialul de răspuns imun se dezvoltă ulterior, odată cu diferențierea celulelor imunocompetente și cu apariția markerilor imunoglobulinici de la suprafața acestora. Dezvoltarea acestor receptori imunologici este condiționată de structurile genetice proprii fiecărui organism și de ambianța de contact a celulelor competente (cap. 2). Devine astfel de înțeles procesul prin care un organism în dezvoltare, care primește în perioada embrionară una sau mai multe antigene străine, le va tolera ulterior pe acestea în mod asemănător cu substanțele proprii. Această teorie are la bază cercetările lui Owen (1945) efectuate la viței gemelari heterozigoți ; reacții de hemoliză practicate cu hematiile acestor gemelari și cu imunoseruri corespunzătoare au relevat că o parte din aceste hematii erau de tip antigenic. Cu alte cuvinte, sîngele gemenilor conținea două tipuri de eritrocite : unele proprii și altele străine, ale partenerului lor. Cauza acestui chimerism a fost atribuită unui schimb de celule hematopoetice între cei doi gemeni, prin intermediul anastomozelor vasculare placentare, în cursul vieții intrauterine. Celulele ce pătrundeau pe această cale de la partener se dezvoltau în organismul străin nu numai în perioada embrionară, ci în tot cursul vieții ulterioare, fără a fi eliminate prin reacții imunologice.

Datele lui Owen au fost confirmate de numeroși alți cercetători (Stromont, 1953; Benirschke, 1962; Dunsdorf, 1953; Booth, 1957; Nicholas, 1957; Woodruff și Lennox, 1959 etc.), la diverse specii de mamifere, evidențiindu-se corelația dintre numărul de anastomoze vasculare placentare și frecvența chimerismului la gemenii heterozigoți. Aceste date au condus de asemenea la conceptul că organismele aflate în fază embrionară pot accepta celule antigenic străine, pe care le pot tolera apoi în decursul întregii lor dezvoltări. Proba experimentală a acestui postulat a fost adusă de către Medawar (1946) și Billingham și colab. (1955), care — inoculînd celule splenice de la șoarece A la embrioni (sau nou-născuți) de șoareci CBA — au constatat că șoarecii CBA astfel tratați și deveniți adulți tolerau grefele provenite de la șoareci A : în timp ce șoarecii CBA martori eliminau în 11 zile grefele provenite de la șoarecii A, organismele CBA pretratate cu celule A în cursul vieții embrionare suportau grefele A în tot cursul unei lungi perioade de observație (peste un an).

Instalarea toleranței imunitare a fost obținută și direct, cu antigene solubile : inocularea de BSA la iepuri nou-născuți face ca o altă inoculare, ulterioară, de BSA să nu mai ducă la producerea de anticorpi circulanți (Smith, 1961).

O altă cale de inducere a toleranței a fost evidențiată prin inocularea antigenului la organisme adulte. În aceste situații se poate obține lipsa de răspuns imun prin hipersensibilitate cutanată la chimicale dacă substanța respectivă se administrează în prealabil pe cale bucală (cazul clorurii de picril) sau intramuscular (cazul neoarsfenaminei).

Cea mai frecventă cale de inducere a toleranței imunologice la un organism adult o constituie așa-numita *paralizie imunitară*, realizată prin administrarea antigenului în doze mari (de 10—100 ori superioare dozei imunizante). Astfel, inocularea la șoarece a unor doze de cîteva micrograme de polizaharid pneumococic S III conferă organismului respectiv imunitate antiinfecțioasă; în timp ce inocularea unei cantități de cîteva miligrame de polizaharid lasă organismul sensibil la infecția pneumococică S III (Felton, 1942). În aceste cazuri nu este vorba de o *paralizie* imunologică propriu-zisă deoarece la reinocularea organismului cu mici doze de polizaharid SI sau S II nu se constată vreo alterare a răspunsului imun obișnuit (Felton, 1955).

Experiențele lui Felton au fost repetate, cu rezultate similare, folosindu-se diverse alte antigene și variate specii animale. Actualmente, inducerea toleranței imunologice la organisme adulte prin administrarea de antigene în doze mari, a devenit o metodă general acceptată (Nossal, 1972).

Inducția toleranței imune este condiționată de o serie de factori, dintre care unii se referă la organismul în cauză, iar alții la starea fizico-chimică a antigenului și la calea de administrare a acestuia.

În fapt, rezultatele cercetărilor întreprinse în ultimii ani au condus la concluzia că inducția toleranței imunologice prin administrarea antigenului este posibilă în oricare fază a dezvoltării ontogenetice. Ceea ce diferă, este cantitatea necesară de antigen care trebuie administrată : astfel, la iepurele nou-născut sînt suficiente doze de 0,5 mg/kg/zi albumină serică bovină pentru inducerea toleranței, în timp ce la cel adult sînt necesare 500 mg/kg/zi. Aceste doze diferite de antigen sînt corelabile cu numărul

Scanned with OKEN Scanner

de celule limfoide prezente în diferitele faze ale dezvoltării ontogenetice : şoarecele adult are o densitate de elemente limfoide de circa 220 ori mai mare decît cea de la şoarecele nou-născut (Howard şi Michie, 1962).

Asemenea date, care au confirmat concepţia după care atît inducerea răspunsului imun, cît şi cea a toleranţei sînt strîns dependente de funcţionalitatea celulelor sistemului imunocompetent, au evidenţiat totodată dificultăţile deosebite care stau în calea încercărilor de a obţine toleranţă imună în cazul transplantelor de organe. După cum se ştie (cap. 3 şi 8), antigenele de histocompatibilitate sînt prezente la suprafaţa celulelor limfoide din splină, ganglioni limfatici etc. ; inocularea de celule splenice poate deci induce la receptor fie sensibilizare, fie toleranţă faţă de o grefă ulterioară provenită de la acelaşi donator. Brent şi Gowland (1962) au determinat numărul de celule splenice necesare pentru inducerea toleranţei la grefă şi au constatat că, în timp ce la şoarecele nou-născut erau suficiente 5×10^6 celule, pentru inducerea toleranţei la şoarecele de 13 zile erau însă necesare o cantitate de 130 de ori mai mare de celule (630×10^6) ; iar pentru şoarecele adult, numărul de celule creşte încă mai mult ($1{,}1 \times \times 10^7$), ceea ce demonstrează că, sub aspect practic, nu este posibilă utilizarea unor asemenea metode pentru obţinerea toleranţei de transplantare în clinica umană.

Rezultatele obţinute prin administrarea de doze suficient de mari de antigen, care să poată bloca reactivitatea celulelor imunocompetente (limfocitele), au subliniat, odată în plus, corelaţia dintre inhibarea capacităţii funcţionale a sistemului limfoid şi instalarea stării de toleranţă imunologică. Postulatul conform căruia existenţa unui număr redus de celule limfoide cu integritate funcţională permite obţinerea toleranţei prin cantităţi mici de antigen este confirmat şi de facilitarea inducerii toleranţei prin tratamente imunodepresive : serul antilimfocitar, citostaticele, antimitoticele şi citotoxicele (cap. 2). Aceste tratamente reduc capacitatea funcţională normală a sistemului limfoid şi permit inducerea toleranţei : dacă la organisme supuse tratamentului imunodepresiv se administrează doze suficiente de antigen, o a doua stimulare, cu acelaşi antigen, după ce efectul tratamentului a dispărut, rămîne de asemenea fără răspuns, cu toate că în momentul respectiv organismele în cauză sînt capabile să reacţioneze normal la alte antigene. Doza de antigen necesară pentru inducerea toleranţei la organismele adulte supuse tratamentului imunodepresiv este mică, comparabilă cu cea necesară pentru a produce acelaşi efect la nou-născuţi (Linscott şi Weigle, 1965).

Drenarea prelungită a canalului toracic (Shellman, 1969) şi timectomia neonatală (Miller, 1967), procedee care asigură o limfopenie masivă, conduc de asemenea la o prelungire importantă a timpului de supravieţuire a grefelor. Invers, stimularea proliferării celulelor limfoide (prin administrare de adjuvanţi Freund) la animale nou-născute duce la creşterea importantă a dozei de antigen necesară a fi administrată pentru inducerea toleranţei (Paraf şi colab., 1963).

Ca şi în cazul memoriei imunologice pozitive, pentru menţinerea toleranţei imunologice (memorie imunologică „negativă") persistenţa antigenului în organism este indispensabilă. În acest sens pledează constatarea că pentru inducerea toleranţei la antigenele rapid catabolizate şi eliminate din organism (albumina serică, spre exemplu) sînt necesare doze

Scanned with OKEN Scanner

de antigen mult mai mari și mai îndelung administrate decît în cazul antigenelor greu metabolizabile și deci neeliminabile din organism (polizaharidele pneumococice) (Felton, 1942 ; Mitchison, 1967).

În cazul toleranței la transplantare, persistența antigenului este asigurată prin supraviețuirea celulelor grefate. Grație autoreproducerii continue a acestor celule, organismul tolerant devine o chimeră, sistemul său limfoid fiind constituit în proporții variabile din celule proprii și celule ale donatorului (Billingham și colab., 1955). Acest chimerism a fost demonstrat atît prin izoantiseruri specifice contra antigenelor donatorului (Gorer și O'Gorman, 1956), cît și prin markerii cromosomici care permit determinarea cantitativă a celulelor de la donatorii ce conțin cromosomi T6T6 (Trentin și Session, 1962).

Dispariția progresivă în timp a toleranței imunologice este corelată cu dispariția concomitentă a antigenului persistent și cu reducerea numărului de celule limfoide cu memorie imunitară „negativă". Dispariția toleranței poate fi prevenită prin readministrarea de doze foarte mici de antigen (Smith, 1961), procedeu care duce și la creșterea numărului de celule limfoide cu memorie „negativă" (de toleranță).

Existența celulelor cu memorie de toleranță pentru un anumit antigen a fost demonstrată prin evidențierea capacității limfocitelor mici, provenite de la un organism tolerant, de a-și menține lipsa de răspuns la antigenul respectiv chiar dacă sînt introduse într-un organism normal (Dietrich și Weigle, 1964 ; Stastny, 1964 ; Friedman, 1965). Celulele limfoide provenite de la animale tolerante și transferate la animale normale iradiate rămîn specific inhibate și conferă receptorului toleranța față de antigenul respectiv (Argyris, 1963). Celulele limfoide, prelevate de la un organism tolerant față de antigenul A, își păstrează însă capacitatea de a reacționa obișnuit față de un alt antigen ; aceasta subliniază specificitatea imunologică a toleranței. Pe de altă parte, dacă la un animal tolerant se inoculează celule limfoide provenite de la un animal normal, atunci organismul receptor pierde starea de toleranță imunitară (Billingham și colab., 1955).

Datele acumulate pînă în prezent au dus deci în mod firesc la considerarea toleranței imunitare ca rezultatul unui proces de inhibiție specifică și sistemică a reacției imunologice. Caracterul specific al toleranței imunologice o diferențiază de alte stări de inhibiție a reacției imunologice determinate prin imunosupresive (raze X, antimetaboliți, ser antilimfocitar), prin malformații congenitale, prin sindroame clinice (maladia Hodgkin) sau prin inhibiție periferică pe cale aferentă (fenomenul de facilitare ori pe cale eferentă (excesul de antigen circulant).

BIBLIOGRAFIE

ABRAMOFF P., BRIEN N. B., J. Immunol., 1968, *100*, 1 210.
ABRAMOFF P., LA VIA M. T., *Biology of the Immune Response*, Acad. Press, New York, 1970.
ADA G. L., LANG P. G., Immunology, 1966, *10*, 431.
ADA G. L., WILLIAMS J. M., Immunology, 1966, *10*, 417.
ADLER F. L., FISHMAN M., DRAY S., J. Immunol., 1965, *95*, 583.
ANDERSSON B., în *Cell Interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North. Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 100.

Askonas B. A., Auzins I., Unanue E. R., Bull. Soc. Chim. Biol., 1968, *50*, 1 113.
Askonas B. A., Rhodes J. M., Nature, 1965, *205*, 470.
Baltimore D., Nature, 1970, *226*, 1 209, Bact. Rev., 1971, *35*, 235.
Batchelor J. R., în *Regulation of the antibody response*, sub red. B. Cinader, Thomas Publ. House, Springfield (Ill.), 1968, p. 276.
Billingham R. E., Brent L., Medawar P. B., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1955, *59*, 409.
Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y., Decreusefond C., în *Genetics of the antibody response* sub red. G. Peeters, Pergamon Press, Londra, 1970, p. 161.
Bishop D. D., Pisciotta A. V., Abramoff P., J. Immunol., 1967, *99*, 751.
Brent L., Gowland G., Nature, 1962, *196*, 1 298.
Burnet F. M., Fenner F., *The production of antibodies*, Macmillan Press, Melbourne, 1949.
Campbell D. H., Garvey J. S., Adv. Immunol., 1963, *3*, 261.
Claman H. N., Chaperon E. A., Transplant. Rev., 1969, *1*, 92.
Claman N. H., Chaperon E. A., Triplett R. F., Proc. Soc. Exp. Biol., 1966, *122*, 1 167.
Clarke C. A., Vox Sang., 1966, *11*, 641.
Cohen E. P., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 1967, *57*, 673 ; Ann. Rev. Microbiol., 1968, *22*, 283.
Cohen J. J., Claman H. N., J. exp. Med., 1971, *133*, 1 026.
Cohen E. P., Newcomb R. W., Crosby L. K., J. Immunol., 1965, *95*, 583.
Cohen E. P., Parks J. J., Science, 1964, *144*, 1 012.
Cohn Z. A., Benson B., J. exp. Med., 1965, *121*, 835 şi *122*, 455.
Cohn Z. A., Wiener E., J. exp. Med., 1963, *118*, 991.
Davies A. J. S., Transpl. Rev., 1969, *1*, 43.
Dixon F. J., Maurer P. H., J. Immunol., 1955, *74*, 418.
Dutton R. W., Adv. Immunol., 1967, *6*, 253.
Eisen H. N., Cancer Res., 1966, *26*, 2 005.
Eisen H. N., Siskind G. W., Biochemistry, 1964, *3*, 966.
Fishman M., Adler F. L., J. exp. Med., 1963, *117*, 595.
Feldman M., Basten A., J exp. Med., 1971, *134*, 103 ; Europ. J. Immunol., 1972, *8*, 8 ; Nature New Biology, 1972, *237*, 13.
Felton L. D., J. Bacteriol., 1942, *43*, 94 ; J. Immunol., 1955, *74*, 17.
Ford W. L., Gowans J. L., Mc Cullagh P. J., in *The Thymus*, Ciba Foundation Symposium, 1966, p. 58.
Friedman H., Science, 1964, *146*, 934.
Friedman H. P., Stavitsky A. B., Solomon J. M., Science, 1965, *149*, 1 106.
Glenny A. T., Südmersen H. J., J. Hyg., 1921, *20*, 176.
Gottlieb A. A., J. Reticuloendothel. Soc., 1968, *5*, 270.
Gottlieb S., Mc Laughlin F. X., Levine L., Latham W. C., Edsall G., Amer. J. Public. Health., 1964, *54*, 961.
Gorer P. A., O'Gorman P., Transpl. Bull., 1956, *3*, 142.
Greaves M. F., Transpl. Rev., 1970, *5*, 45.
Greaves M. F., Hogg N. M., în *Cell interactions and receptor antibodies in immune responses*, subred. O. Mäkelä, Academic Press, Londra, 1971, p. 145.
Green H., Anker H. S., J., Gen. Physiol., 1955, *38*, 283.
Haurowitz F., Ann. Rev. Biochemistry, 1960, *29*, 609.
Heidelberger M., Mc Leod C. M., Kaiser S. J., Robinson B., J. exp. Med., 1946, *83*, 303.
Howard J. D., Michie D., Transplant. Bull., 1962, *29*, 1.
Iverson G. M., în *Cell Interactions*, sub red. L. G. Silvestri, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 192.
Jacob F., Monod J., J. Mol. Biol., 1961, *3*, 318.
Jerne N., în *Immunosurveillance mechanisms*, Academic Press, New York, 1970, p. 432.
Jerne N. K., Avegno P., J. Immunol., 1956, *76*, 200.
Jilek M., Sterzl J., Folia Microbiol. (Prague), 1967, *12*, 6,
Karnowsky M. L., Graham R., Karnowsky M. J., Saito K., Schafer A. W., Glass E., Protoplasma, 1967, *63*, 88.
Katz H., Paul W. E., Goidl E. H., Benacerraf B., J. exp. Med., 1970, *132*, 261.
Kern M., Helmreich E., Eisen H. N., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 1959, *45*, 862.
Lakin J. D., Patterson R., Pruzansky J. J., J. Immunol., 1969, *103*, 577.
Lazda V. A., Starr J. L., Rachmeler M., J. Immunol., 1968, *101*, 349 şi 359.
Leskowitz S., Ann. Rev. Microbiol., 1967, *21*, 157.
Linscott W. D., Weigle W. O., J. Immunol., 1965, *94*, 430.
Mach B., Vassalli P., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 1965, *54*, 975.

Scanned with OKEN Scanner

MAKINODAN T., PETERSON W. J., Develop. Biol., 1966, *14*, 112.
MALEC J., KORNACKA L., WOJNAROURSKA M., în *V-ème Congres International Biochimie*, Pergamon Press, Oxford & Panstrowe Wydasonictwo Naukowe, Varşovia, 1961 (3.62.1386).
MC DEVITT H. O., ASKONAS B. A., HUMPHREY J. H., SCHECHTER I., SELA M., Immunology, 1966, *11*, 337.
MEDAWAR P. B., Brit. J. Exp. Path., 1946, *27*, 15.
MELCHERS F., KNOPF P. M., cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1967, *32*, 255.
MESROBEANU I., BONA C., MESROBEANU L., Exptl. Cell. Res., 1964, *36*, 434.
MESROBEANU I., BONA C., VOICULESCU R., MESROBEANU L., Arch. Roum. Pathol. Exptl. Microbiol., 1964, *23*, 627.
MESROBEANU I., MESROBEANU L., BONA C., în *Microbial toxins*, Acad. Press, Inc., New York, 1970, p.
MESROBEANU I., MESROBEANU L., BONA C., Arch. Roum. Pathol. Exptl., Microbiol., 1965, *24*, 301.
METCHNIKOFF E., Ann. Inst. Pasteur, 1899, *13*, 47.
MILLER J. F. A. P., în *Tolérance acquise et tolérance naturelle*, Edit. C.N.R.S., Paris, 1967, p. 47; *Cell interactions and receptor antibodies in immune responses*, Academic Press, Londra şi New York, 1971, p. 293.
MILLER J. F. A. P., MITCHELL G. F., J. exp. Med., 1968, *128*, 801; Adv. Exp. Med. Biol., 1969, *5*, 455; Transplant. Rev., 1969, *1*, 3.
MITCHISON N. A., în *Regulation of the Antibody Response*, sub red. B. CINADER, Thomas Publ., Springfield, Ill., 1967, p. 87.
MITCHISON N. A., RAJEWSKY K., TAYLOR R. B., în *Developpments aspects of antibody formation and structures*, sub red. STERZL I., RHIA W., Academic Press, New York, 1970, vol. 2, p. 547.
MÖLLER E., MÄKELÄ O., în *Cell Interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 214.
MÖLLER E., SJÖBERG O., MÄKELÄ O., Eur. J. Immunol., 1971, *1*, 218.
NOSSAL G. J. V., în *Nobel Symposium on Gamma Globulins*, sub red. J. KILLANDER, Almqvist and Wiksell Publ., Stockholm, 1967, p. 429.
NOSSAL G. J. V., ADA G. L., AUSTIN C. M., Austral. J. exp. Biol. Med. Sci., 1964, *42*, 283.
OWEN R. D., Science, 1945, *102*, 100.
PARAF A., FOUGEREAU M., BUSSARD A., în *Tolérance acquise et tolérance naturelle*, Edit. C.N.R.S., Paris, 1963, p. 97.
PAUL W. E., SISKIND G. W., BENACERRAF B., OVARY Z., J. Immunol., 1967, *99*, 760.
PĂUNESCU EUG., Microbiol., Parazitol., Epidemiol., 1960, *5*, 397; Nature, 1970, *228*, 1 188.
PĂUNESCU EUG., *First Romanian Symposium of Immunology*, Bucureşti, sept. 1971, Edit. Medicală, Bucureşti, 1971, p. 52.
PĂUNESCU EUG., HADÎRCA E., Rev. Roum. Biochim., 1964, *1*, 183.
PĂUNESCU EUG., MUŞĂTEANU R., STOINESCU M., ZAHARESCU C., XIX-e Conf. Int. Tuberculose (Amsterdam, 1967), Excerpta Medica Found., Amsterdam, 1967, p. 23; St. cerc. biochim., 1967, *10*, 3.
PĂUNESCU EUG., MUŞĂTEANU R., ZAHARESCU C., STOINESCU M., INDRIES A., Ftiziologia, 1971, *20* (supl.), 41.
PĂUNESCU EUG., STOINESCU M., 7-th Int. Congr. Clin. Chem., Karger Publ., Basel — New York, 1970, vol. 3, p. 429.
PORTER R. J., Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1966, *121*, 107.
RAFF M. C., Immunology, 1970, *19*, 637; în *Cell Interactions* sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 237.
RAJEWSKY K., SHIRRMACHER V., NASE S., JERNE N. K., J. exp. Med., 1969, *129*, 1 131.
SCHMIDTKE J., UNANUE E. R., Nature New Biology, 1971, *233*, 84.
SCOLNICK E, M., AARONSON S. A., TODARO G. J., Nature, 1971, *229*, 318.
SELL S., WEIGLE W. O., J. Immunol., 1959, *83*, 257.
SHAPIRO A. L., SCHARFF M. D., MAIZEL J. V. Jr., UHR J. W., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 1966, *56*, 216.
SHELLMAN G. R., Immunology, 1969, *17*, 267.
SMITH R. T., Adv. Immunol., 1961, *1*, 67.

Scanned with OKEN Scanner

Svehag S. E., Mandel B., J. exp. Med., 1964, *109*, 21.
Swenson R. M., Kern M., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 1968, *59*, 546.
Taylor R. B., Transplant. Rev., 1969, *1*, 114.
Taliaferro W. H., Talmage D. W., J. Infect. Dis., 1955, *97*, 88; 1957, *101*, 252.
Temin H. M., Virusology, 1963, *20*, 577; 1964, *23*, 486.
Temin H. M., Mizutani S., Nature, 1970, *226*, 1 211.
Uhr J. W., Scharff M. D., Tawde S., in *Molecular and Cellular Basis of Antibody Formation*, sub red. J. Strzl, Academic Press, New York, 1965.
Trentin J. J., Session J., *Symposium on Mechanisms of Immunological Tolerance*, Publ. House Czech. Acad. Sci., Praga, 1962, p. 31.
Uhr J. W., Finkelstein M. S., J. exp. Med., 1963, *117*, 457; Progr. Allergy, 1967, *10*, 37
Unanue E. R., Askonas B. A., J. exp. Med., 1968, *127*, 915.
Vitetta E. S., Baur S., Uhr J. W., J. exp. Med., 1971, *134*, 242.
Williamson A. R., Askonas B. A., J. Mol. Biol., 1967, *23*, 201.
Wilson J. D., Feldman M., Nature New Biology, 1972, *237*, 3.
Wolfe H. R., Amin A., Mueller A. P., Aronson F. R., Int. Arch., Allergy, 1960, *17*, 106

Scanned with OKEN Scanner

6. REACȚII UMORALE ȘI CELULARE CU ANTIGENUL. ROLUL COMPLEMENTULUI

Răspunsul imun este rezultatul interacțiunii dintre antigen și factorii imunologici efectori ai organismului, aceștia din urmă putînd fi grupați în două mari categorii: factori umorali (anticorpi) și factori celulari.

Reacțiile factorilor imunologici efectori cu antigenul au loc în mod spontan *in vivo*, în organismul imunizat; ele au fost însă obținute și *in vitro*, condiții care au permis lărgirea cunoștințelor asupra mecanismelor imunologice și au condus la concretizarea unui mare număr de tehnici diagnostice, prognostice, de evolutivitate etc., cu vastă aplicativitate în clinică.

Descrierea și mecanismele de inițiere și dezvoltare a acestor procese. *in vivo*, ca și consecințele lor imunopatologice generale sînt incluse în cap. 7—9. În capitolul de față se insistă asupra proceselor și mecanismelor de reacție *in vitro* dintre antigen și efectorii (umorali sau celulari) imunologici. Reacțiile în care intervine și complementul sînt grupate în subcapitolul C.

A. REACȚII UMORALE CU ANTIGENUL (REACȚII ANTIGEN — ANTICORP)

EUG. PĂUNESCU

Prezența anticorpilor într-un organism poate fi constatată prin punerea în evidență a anumitor reacții caracteristice pe care serul* acestui organism le dezvoltă în prezența antigenului imunizant. În condiții similare, observarea unor reacții imunologice caracteristice între serul unui organism și un anumit antigen permite precizarea unor relații cauzale între antigenul respectiv (bacterie, virus, agent sensibilizant etc.) și starea patologică a organismului de la care s-a prelevat serul.

Reacțiile imunologice caracteristice sînt expresia combinării anticorpilor cu antigenul corespunzător, complexul antigen—anticorp care ia astfel naștere prezentînd proprietăți diferite de acelea ale componenților săi (anticorpii și antigenul), ceea ce permite punerea lui în evidență. Astfel, cînd un antigen solubil este amestecat cu serul organismului imunizat, complexul antigen—anticorp format nu mai are același grad de solubilitate ca cel al componenților săi; și, atunci cînd proporțiile de antigen și anticorp puse în contact sînt adecvate, complexul format va precipita, iar aspectul tulbure al amestecului care rezultă va permite constatarea că reacția dintre antigen și anticorp a avut loc.

---

* Serul, plasma, lichidul cefalorahidian, lacrimile, saliva, exsudate, urină sau alte produse biologice care pot conține anticorpi.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilitățile de punere în evidență a complexului antigen—anticorp format sînt foarte variate și ele sînt în mare măsură dependente de calitățile componenților ce intră în reacție și care, în ultimă instanță, definesc noile proprietăți ale complexului ce ia naștere. Astfel, spre exemplu, dacă antigenul intrat în reacție nu este solubil, ci corpuscular (celulă bacteriană, hematie etc.), atunci agregatele formate de complexul antigen—anticorp vor fi deosebit de mari, luînd forma unor aglutinate. Dar, dacă anticorpul este monovalent sau dacă în reacție intervine numai haptena antigenului (cap. 3), atunci complexul format nu va mai fi precipitalul; în schimb, în asemenea situații, se pot constata modificări ale tensiunii superficiale și vîscozității amestecului sau schimbări ale coeficientului de sedimentare, ale mobilității electroforetice etc., care traduc formarea complexului antigen—anticorp. Mai mult, în asemenea situații, dacă antigenul avea proprietăți biologice concrete (citotoxicitate, activitatea enzimatică sau biostimulatoare etc.), după punerea lui în contact cu antigenul, chiar în absența formării unui precipitat, se poate constata că și-a pierdut proprietățile biologice (a fost „neutralizat").

Există o altă serie de reacții între antigen și anticorp care, pentru a fi evidențiate, necesită prezența în sistemul de reacție al unor anumite celule, deoarece în aceste cazuri anticorpii au proprietatea de a se fixa pe celule. Acesta este cazul anticorpilor opsonizanți, a celor anafilactizanți (cap. 7), eliberatori de substanțe H, și a celor citofili pentru macrofage. Trebuie subliniat că, în aceste cazuri, deși la reacție participă și o componentă celulară, nu este vorba de reacții propriu-zise între antigen și celulă, deoarece factorul imunologic efector este tot imunoglobulina-anticorp.

În sfîrșit, o categorie importantă de reacții antigen—anticorp, care pentru inițiere și desfășurare au nevoie de prezența complementului, constituie substratul unui mare număr de procese imunologice, printre care bacterioliza, bactericidia, imunoaderența și o parte importantă dintre fenomenele de imobilizare și conglutinare (vezi p. 160).

Întrucît reacțiile dintre antigen și anticorp nu pot fi întotdeauna direct vizualizate, ci necesită adesea procedee indirecte de evidențiere, s-a considerat util să se descrie două stadii în desfășurarea acestor procese (Boyd, 1956): *a*) formarea complexului antigen—anticorp ca rezultat al reacției fizico-chimice dintre cei doi componenți; *b*) reacțiile secundare care urmează formării complexului și care permit punerea lui în evidență. Aceste două etape nu pot fi însă net disociate în timp, iar mecanismele care participă sînt strict dependente între ele. Totuși, deoarece formarea complexului antigen—anticorp este un proces comun, coordonat de legi generale, iar manifestările secundare sînt variate, condiționate de calități particulare ale componenților (care definesc tipul de reacție: agregare, neutralizare, anafilaxie, opsonizare, adeziune etc.), este preferabil să fie descrise în prealabil mecanismele formării complexului antigen—anticorp și ulterior tipurile evidențiabile ale reacțiilor dintre anticorpi și antigene.

1) FORMAREA COMPLEXULUI ANTIGEN — ANTICORP

Între moleculele de anticorp și cele de antigen corespunzător există o serie de regiuni complementare din punct de vedere fizico-chimic: așa-numitele „situsuri combinative" (cap. 4) de pe molecula anticorpului și

„determinanți antigenici" (cap. 3) de pe molecula antigenului. Aceste două zone complementare determină reacția dintre antigen și anticorp, care în esență este de natură stereochimică.

Modul de reacție între situsurile combinative și determinanții antigenici constituie substratul specificității acestor reacții și, în ultimă analiză, substratul caracterului dominant al proceselor imunologice efectoare. Acest mecanism de reacție este determinat de o serie de factori, printre care natura și talia determinaților ce intră în reacție, energia calorică a forțelor de legătură, reversibilitatea legăturilor și, implicit, influența temperaturii, pH-ului, forței ionice etc. asupra vitezei de reacție. Studiul contribuției fiecăruia dintre acești factori la formarea complexului antigen—anticorp a permis formularea unei imagini de ansamblu asupra tipurilor de legătură ce se realizează între molecula de antigen și cea de anticorp.

Aceste cercetări au avut ca punct de pornire specificitatea foarte marcată a reacției dintre antigen și anticorpul său (Landsteiner, 1945). Două antigene care au determinanți comuni pot reacționa fiecare cu anticorpul produs de celălalt (*reacții serologice încrucișate*), dar reacția este mai puțin intensă decît cea pe care antigenul o dă în contact cu anticorpul produs de el însuși. Cu cît două antigene conțin un număr mai mare de determinanți comuni, cu atît reacțiile încrucișate pe care le dau sînt mai intense; de unde rezultă că specificitatea combinării antigenului cu anticorpul este direct corelată cu numărul de situsuri combinative și determinanți antigenici complementari care pot intra în reacție.

Natura și talia determinanților antigenici care intră în reacție cu molecula de anticorp au fost studiate în special cu ajutorul antigenelor artificiale (Landsteiner, 1945; Marrack, 1938). Asemenea studii au arătat că formarea complexului antigen—anticorp este modificată prin introducerea în molecula de antigen a unor grupări cu talie moleculară redusă, ca grupările azofenil, naftalen, antracen, arsanil etc. O importanță mare deține tipul de legătură dintre grupare și restul moleculei de antigen; în acest sens, încă din 1936, Mutsaars și Grégoir au evidențiat o specificitate serologică diferită între proteina în care un același determinant este legat la nucleul lizinei prin legătură ureidică și cel conjugat prin azo-legătură (—N :N—). Cercetări mai recente (Benacerraf și colab., 1967) au arătat, cu ajutorul haptenelor DNP-polilizinice, că îndepărtarea grupării reactive de masa moleculei de antigen (ceea ce se obține prin creșterea numărului de molecule de lizină în gruparea haptenică) duce la alt tip de legătură între antigen și anticorp și, prin aceasta, la o modificare a specificității antigenului.

Aceste cercetări au evidențiat deci că determinanții antigenici sînt în fapt grupări chimice cu talie relativ mică, al căror mod de legare în molecula antigenică și a căror poziție spațială este adesea hotărîtoare. Natura chimică a acestor determinanți și a legăturilor din reacția lor cu anticorpii a fost în plus atestată de *influența* pe care o au *condițiile de pH, de salinitate și temperatură* asupra formării complexului antigen—anticorp. Astfel, spre exemplu, pentru formarea unui anumit tip de complex antigen—anticorp este optimă o anumită valoare a pH-ului mediului (De Kruif și Northrop, 1922), ceea ce înseamnă că combinația depinde de gradul de ionizare al anumitor grupări (Marrack, 1938). În același sens s-a constatat că există o concentrație optimă de săruri (și, implicit, o forță

Scanned with OKEN Scanner

ionică optimă), de obicei cea fiziologică, care asigură o intensitate maximă a formării complexului antigen—anticorp (Haurowitz, 1953). O zonă optimă similară a fost evidențiată și pentru temperatură, care de obicei este situată între 15° și 40°C.

Viteza de reacție între antigen și anticorp s-a observat a fi variabilă în timp: astfel, deși combinarea inițială a antigenului cu serul imun anti-proteină de cal sau anti-polizaharid pneumococic (Heidelberger 1940; Mayer și Heidelberger, 1942) are loc practic în cîteva secunde de la amestecarea preparatelor, totuși reacția nu este completă decît după un timp mai îndelungat.

Viteza de reacție între antigen și anticorp este dependentă de raportul dintre antigen și anticorp, de temperatura mediului de reacție, de pH-ul mediului și de concentrația în săruri (vezi p. 148).

Însă, la condiții identice, viteza de reacție variază mult în funcție de tipul antigenului: polizaharidul pneumococic se cuplează 90% cu anticorpii în numai 3 secunde, în timp ce reacția pentru antigenul Rh necesită 60 de minute. În determinarea vitezei de reacție pot să intervină, desigur, prezența unor anticorpi deficitari, valența antigenului etc.; dar principala cauză o constituie tipul de legare a antigenului cu anticorpul (p. 145).

Reversibilitatea complexelor antigen—anticorp este un alt aspect al tipului de legătură realizat între antigen și anticorp. Posibilitatea de disociere a complexelor antigen—anticorp a fost semnalată de numeroși cercetători (Heidelberger, 1937). S-au folosit în acest scop metode diferite, printre care adăugarea unui exces de antigen constituie o cale curentă pentru „solubilizarea" complexului antigen—anticorp atît *in vitro* cît și *in vivo*. Acest fenomen a fost interpretat ca o inversare a unor reacții dintre determinanții antigenici și situsurile combinative, proces care este coordonat de legea maselor și poate fi prelucrat matematic (Arrhenius, 1907; Isliker, 1958). În conformitate cu legea maselor, aplicată la amestecul de antigen și anticorp, rezultă că trebuie să existe o relație liniară între logaritmul raportului anticorp/antigen în precipitat și logaritmul concentrației componentei în exces (antigenul sau anticorpul) aflată în supernatant. Verificarea experimentală a acestei ipoteze a arătat existența relațiilor lineare prevăzute prin calculul matematic.

Reversibilitatea reacțiilor serologice a fost demonstrată prin tehnici variate. Inițial, Eisen și Karush (1950) au folosit dializa consecutivă a haptenei și anticorpului contra haptenă, constatînd un anumit echilibru, bine definit, între compușii solubilizați din complexul antigen—anticorp. Ulterior, un echilibru dinamic între haptenă, anticorp și compușii ce conțin una, două sau trei molecule de anticorp a fost evidențiat cu ajutorul tehnicilor combinate de dializă de echilibru, electrodializă, electroforeză și imunoelectroforeză, ultracentrifugare, trasori radioactivi etc. (Kabat și Meyer, 1971).

Aplicarea legii acțiunii maselor la procesul de formare a complexului antigen—anticorp a permis, prin determinarea experimentală a constantei de echilibru între complexul format și componenții solubili, să se determine de la caz la caz gradul de stabilitate al complexului antigen—anticorp. Aceste studii au făcut de asemenea posibilă calcularea energiei libere și variațiile entalpiei și entropiei la temperaturi diferite.

Scanned with OKEN Scanner

Energia de legătură între antigen și anticorp a fost inițial determinată experimental de către Boyd, cu ajutorul unui calorimetru sensibil. Folosind ca antigen hemocianina și anticorpi specifici de cal, Boyd găsește că formarea complexului antigen—anticorp dezvoltă circa 3 calorii per gram de azot al antigenului; ceea ce, pentru greutatea moleculară de 6 800 000 a hemocianinei reprezintă circa 3 300 kcal/mol antigen. Prin extrapolare, s-a calculat că această energie corespunde la circa 40 kcal/mol de anticorp.

Întrucît metoda inițială a lui Boyd utiliza un antigen cu talie foarte mare, ceea ce contribuie la constituirea unui complex antigen—anticorp cu un raport Atc/Atg deosebit de mare, s-au refăcut măsurătorile asupra energiei libere dezvoltată în reacțiile antigen—anticorp cu ajutorul unor antigene obișnuite și folosind metode de estimare termodinamică variate: a) măsurarea directă a căldurii de reacție; b) dialize de echilibru; c) analiza precipitatelor și supernatantelor; d) observații electroforetice și prin ultracentrifugare; e) difuziunea luminii etc. Rezultatele obținute au permis aprecieri multiple:

a) *Variația energiei libere* (ΔF_0) care reprezintă energia de legare între situsurile combinative ale anticorpului și determinanții antigenici; pentru diferite tipuri de complexe antigen—anticorp, s-au găsit valori ale lui ΔF_0 între —4,8 și 14 kcal/mol;

b) *Variația entalpiei* (ΔH_0) care corespunde schimbului total de căldură din cursul reacției; valorile ΔH_0 au fost găsite ca variind între 0 și 9 (cu excepția hemocianinei pentru care $\Delta H_0 = -40$), ceea ce corespunde caracterului exoterm al reacțiilor dintre antigen și anticorp;

c) *Variația entropiei* (ΔS_0), care reprezintă diferența dintre entalpie și energia liberată în reacții, în condiții termodinamice date, și corespunde nivelului de particule libere din sistem; faptul că pentru ΔS_0 s-au găsit valori pozitive (0,3—29 e.u./mol) arată că, în sistem, după formarea complexului antigen—anticorp, se găsesc mai multe particule libere (ceea ce pare să fie rezultatul moleculelor de apă provenite din unirea antigenului cu anticorpul și modificărilor consecutive de structură terțiară).

Tipuri de legătură între antigen și anticorp. Rezultatele privind natura și talia grupărilor reactive, energia de legătură, condițiile de reversibilitate ale complexului antigen—anticorp au permis adîncirea cunoștințelor asupra modului de reacție dintre moleculele de antigen și anticorpii respectivi.

Teoretic, există un număr mai mare de legături chimice care ar putea interveni la formarea complexului antigen—anticorp. Dintre acestea, unele sînt legături puternice, ca cele ionice (cedare de electroni) și cele covalente (punere în comun de electroni pentru a forma dublete); în aceste cazuri, energia de legătură este mare, de ordinul a 50—100 kcal/mol. Alte forțe de legătură necesită energii mult mai mici; astfel, atracția între grupările polare aprotice (neionice), de tipul punților de hidrogen, implică energii de ordinul a 5 kcal/mol; atracția de tip coulombian, între grupări cu sarcină opusă, implică energii de ordinul 4,5 kcal/mol; iar forțele de atracție de tip van der Waals sînt de ordinul a 0,25—1,9 kcal/mol. Întrucît energia de legătură în complexele antigen—anticorp este de ordinul a 4—15 kcal/mol, există toate argumentele pentru a admite implicarea, în aceste cazuri, a legăturilor slabe. Dealtfel, în acest sens demonstrează

Scanned with OKEN Scanner

valorile căldurii de reacție rezultată din combinarea anticorpilor aglutinanți anti-B cu un antigen corespunzător, care s-au dovedit egale cu 4 legături de hidrogen sau 20 legături van der Waals (Wurmser și Filitti, 1950).

Forțele slabe de legătură menționate sînt eficiente numai la distanțe foarte mici; ele sînt invers proporționale cu distanța dintre grupele reactive, și anume: cu pătratul acestei distanțe în cazul forțelor coulombiene, cu puterea a șasea în cazul punților de hidrogen și cu puterea a șaptea în cazul forțelor van der Waals. Aceasta presupune că distanța între determinanții antigenici și situsurile anticorpice care intră în reacție trebuie să fie foarte mică, ceea ce a condus la concepția că reacția antigen—anticorp trebuie să aibă un mecanism similar cu cel al reacțiilor dintre enzime și substratele lor: anticorpul trebuie să prezinte o concavitate de grupări reactive în care să se muleze o convexitare de grupări complementare reactive aparținînd antigenului. Calculele făcute în acest sens (Kabat și Meyer, 1971) au dus la concluzia că cele două feluri de grupe reactive trebuie să se afle la distanțe de 5—6 angstromi una de alta, iar un situs combinativ trebuie să aibă cam 34 $\times$ 12 $\times$ 7 Å (pentru polizaharide și ceva mai puțin pentru polipeptide), ceea ce înseamnă cam 2 500—3 000 Å^2 ca arie totală. Această suprafață nu depășește 1 % din cea totală a unei molecule de IgG (Campbell și Bulman, 1952). Cum pe o moleculă de anticorp există un număr mare de situsuri combinative, s-ar putea considera că polivalența acestor anticorpi este egală cu cea a locurilor de combinare. Din punct de vedere practic însă, datorită taliei moleculei de antigen, nu este posibil să reacționeze simultan toate situsurile combinative ale anticorpului. Între numărul de molecule de antigen și cele de anticorp care se combină există posibilitatea unor proporții variate, între o limită superioară și una inferioară, determinate de valențele celor doi componenți ce intră în reacție. Proporția relativă a fiecărui component poate varia în complexul antigen—anticorp (cap. 3 și 4), în funcție de valența lor.

2) REACȚII DE AGREGARE ȘI MECANISMELE DE FORMARE

Reacțiile de precipitare dintre anticorp și un antigen solubil ca și cele de aglutinare realizate de anticorp cu un antigen particulat, sînt rezultatul unor procese de agregare. Diferența între precipitarea specifică și aglutinare constă în diferența de talie a particulelor de antigen; ambele reacții constau în unirea specifică a anticorpului cu antigenul. În acest sens, Jones (1927) și Pol (1929) au observat că particulele de colodiu, îmbrăcate cu albuș de ou, erau aglutinate de diluții foarte mari de ser anti-ovalbumină, chiar dacă același ser imun dădea reacții de precipitare cu ovalbumina în diluții mult mai mici. Prezența determinanților antigenici la suprafața celulelor bacteriene, protozoarelor, eritrocitelor etc. a fost evidențiată prin contrast de fază, microscopie electronică, anticorpi fluorescenți etc. (Tomcsik, 1956; Kabat și Meyer, 1971).

Există variate procese de combinare a antigenului cu anticorpul care dau naștere la agregate. Printre reacțiile de precipitare tipice, în afară de „precipitarea" și „floculareа" clasică, trebuie amintite: *a*) „reacția inelului" (de precipitare) care apare la interfaza de separare a antiserului

pus în contact cu soluția de antigen ; *b*) imunodifuzia de tip Ouchterlony (1948), care constă în formarea unor benzi de precipitat ca urmare a difuziei concomitente a antigenului și anticorpilor într-un gel de agar ; *c*) imunoelectroforeza (Grabar, 1957), care este rezultatul separării electroforetice a serurilor urmată de dublă difuzie în gel ; *d*) evidențierea complexului antigen—anticorp format prin utilizarea marcării cu radioizotopi, metale grele etc. a antigenului sau prin separarea lui prin ultracentrifugare, cromatografie etc.

În ceea ce privește imunoaglutinarea, tehnicile care folosesc acest procedeu au căpătat o extindere largă deoarece permit identificarea și dozarea unor cantități mici de anticorp (sau antigen). La baza acestor tehnici stă constatarea că polizaharidele antigenice pot fi adsorbite pe suprafața membranei hematiilor (Middlebrook și Dubos, 1948),proteinele antigenice pot fi adsorbite de hematiile tanate (Boyden, 1951), iar lipidele antigenice pot fi adsorbite pe particule inerte, cum este kaolinul (Takahashi și colab., 1961), polistirenul (Singer și Plotz, 1956), colodiul etc. Hematiile sau particulele coloidale astfel pregătite constituie antigene cu talie mult mărită, care pot fi ușor vizualizate după agregare în prezența unor mici cantități de anticorpi (*reacții de hemaglutinare pasivă sau indirectă* ; *kaolinoaglutinare* etc.).

Tehnicile cantitative de imunoagregare au fost utilizate ca metode analitice pentru estimarea anticorpilor intrați în reacție și pentru analiza mecanismelor imune de agregare. Inițiate de către Heidelberger (1933), aceste tehnici analizează N-proteic în complexul antigen -anticorp (sau/și în supernatant), după tratarea adecvată a preparatului (centrifugare, ultracentrifugare, electrodializă, electroforeză etc.). Cercetări similare, întreprinse cu polizaharidul pneumococic tip I și serurile specifice, au demonstrat că aglutininile și precipitinele respective sînt identice (Heidelberger, 1936).

Cantitățile de antigen necesare pentru agregare sînt în general deosebit de mici : cu 0,2—1 μg/ml se pot obține precipitate vizibile cu ovalbumina sau polizaharidul pneumococic, puse în prezența unor cantități variabile de ser imun (diluții între 1/25 și 1/6400). La diluții mari de ser imun precipitarea nu mai are loc. Acest proces nu este datorit lipsei totale de anticorpi deoarece, dacă se reduce cantitatea de antigen, precipitatul se formează și cu diluțiile mari de ser imun ; este vorba deci de o *inhibiție prin exces de antigen* sau despre o „solubilizare" a complexului antigen -anticorp în prezența unui exces de antigen. Un fenomen similar, dar care se produce mai rar, este cel al *inhibiției prin exces de anticorpi*. Solubilizarea complexului antigen-anticorp prin exees de anticorpi a fost semnalată în unele boli autoimune (maladia Hashimoto), în cazul serurilor imune de cal antiproteină (nu însă în cazul serurilor imune de cal antipolizaharide).

Procesele de „inhibiție" prin exces de antigen sau anticorpi nu sînt provocate prin blocarea formării complexului antigen -anticorp, ci — datorită excesului unuia dintre componenți — complecșii formați conțin un număr mare din componentul ce saturează și, astfel, agregabilitatea sistemului este mult diminuată.

Cercetările întreprinse de Heidelberger, Boyd, Pappenheimer și alții au demonstrat că, prin amestecarea unei aceleiași cantități de anti-

corpi cu cantități variate de antigen, reacția imună ce are loc se comportă diferit : *a*) într-o primă zonă, cînd antigenul este foarte redus (*exces de anticorpi*), la serurile de cal antiproteină nu se observă formare de precipitat ; în schimb, serurile de cal antipolizaharidice sau antiserurile de iepure dau complexe antigen—anticorp precipitabile, chiar dacă raportul anticorp/antigen este 20/1 ; *b*) pe măsură ce cantitatea de antigen în amestec crește, cantitatea de precipitat format crește de asemenea ; în aceste condiții, există totdeauna o zonă de *echivalență* în care ambele cantități de antigen și de anticorp au intrat în reacție, iar precipitatul format este maxim ; *c*) în sfîrșit, pe măsură ce cantitatea de antigen crește, precipitatul imun scade și se ajunge în final la un *exces de antigen* cînd de asemenea multe complexe antigen—anticorp, deși se formează, nu agregă. Aceste etape sînt valabile atît pentru reacțiile de precipitare, cît și pentru cele de aglutinare, însă în cazul imunoaglutinărilor inhibiția prin exces este mai rară ; datorită taliei foarte mari a antigenului procesul de agregare este mult ușurat.

Experimentele amintite au reliefat importanța *proporțiilor optime* de antigen și anticorp pentru formarea complexului imun, evidențierea lui și viteza de reacție. Pentru o anumită cantitate de anticorp (antigen) există totdeauna o cantitate optimă din antigenul (anticorpul) corespunzător care asigură formarea unei cantități maxime de complex imun precipitabil într-un timp minim (Boyd, 1956 ; Kabat și Meyer, 1971).

Mecanismul imunoagregării. O moleculă de imunoglobulină-anticorp posedă două lanțuri polipeptidice ușoare (L) și două grele (H),legate între ele printr-o serie de legături disulfurice (cap. 4). Hidroliza menajată cu tripsină a acestor molecule duce la eliberarea a două fragmente Fab(t) și un fragment Fc(t), dintre care fiecare fragment Fab(t) are capacitatea de a se lega monovalent cu antigenul, reprezentînd deci o grupare combinativă monovalentă. Devine astfel evident că, dacă o structură imunoglobulinică incompletă de tipul fragmentului monovalent Fab(t) este pusă în contact cu antigenul va avea loc reacția antigen—anticorp, însă numai între o moleculă de anticorp și una de antigen. Dar, dacă molecula Ig-anticorp este completă, posedînd ambele fragmente Fab(t), în reacție cu antigenul ea se va comporta bivalent, fiecare fragment Fab(t) reacționînd cu o moleculă de antigen. În cazul cînd o aceeași moleculă de antigen este fixată — monovalent — de mai multe molecule de anticorpi și acestea reacționează prin cealaltă valență cu altă moleculă de antigen, se va forma o rețea tridimensională de multiple complexe antigen -anticorp. Talia acestei formațiuni de supercomplecși imuni poate fi enormă, atingînd în reacțiile de floculare volume în jur de 1 mm^3, vizibile cu ochiul liber. Formarea unor asemenea supercomplecși face ușor de înțeles capacitatea lor de agregare, spre deosebire de cazurile cînd în reacție intră anticorpi sau antigene incomplete, care nu permit formarea de rețele tridimensionale (cap. 4, fig. 18).

Teoria rețelei (sau *grilajului*) a fost formulată inițial de Marrack (1938) și dezvoltată de Heidelberger (1939), Pauling (1940) și alții. Conform acestei concepții, astăzi larg verificată experimental, imunoagregarea nu comporta decît reacții specifice între anticorpii și antigenele corespunzătoare ; influența altor factori (ca electroliți, temperatură etc.) are un substrat nespecific, putînd accelera (sau încetini) procesul de agre-

gare, fără să participe direct la formarea complecșilor imuni (Boyd, 1956; Kabat și Meyer, 1971).

Rețelele de antigen și anticorpi au putut fi dealtfel vizualizate prin microscopie electronică (Elek și colab., 1964; Feinstein și Rowe, 1965). Atunci cînd se folosesc antigene cu talie mare (feritină, flageli bacterieni, particule virale etc.), în imaginile electronice obținute cu aceste preparate moleculele de anticorpi (avînd talie net mai mică decît moleculele de antigen) se observă ca niște punți ce leagă între ele structurile antigenice.

O altă posibilitate de evidențiere a rețelelor de antigene și anticorpi a fost obținută prin utilizarea trasorilor radioactivi și a metodei autoradiografice. Astfel, Păunescu și colab. (1970) pun în contact antigene marcate cu ^{131}I și anticorpi citofili pentru macrofage și complexele obținute le pun în evidență pe cale autoradiografică; în frotiurile finale, antigenele apar fixate pe celule, prin anticorpii citofili. Mai multe mononucleare sînt reținute împreună, formînd complecși alternanți de tipul „celulă -anticorp -antigen -anticorp-celulă". Existența acestor complecși a fost dealtfel sugerată încă de experiențele lui Pauling și colab. (1944) care au preparat două seruri imune: anti-A și anti-B; fiecare ser în parte nu precipita cu haptena corespunzătoare, dar, dacă cele două haptene A și B se cuplau și se puneau în contact simultan cu cele două seruri, avea loc formarea de precipitat. Acest precipitat trebuie să fie rezultatul constituirii unor complecși de tip alternant: ser anti-B—BA—ser anti-A—AB — ser Anti-B-...

Imaginile electronooptice, precum și studiile de difracție cu raze X au arătat că, în cazul complexelor antigen—anticorp, moleculele de imunoglobulină pot prezenta anumite replieri, ce corespund unei mai bune mulări pe molecula de antigen (cap. 4). Asemenea replieri reprezintă o modificare a structurilor terțiară și cuaternară ale moleculei de Ig, ceea ce poate avea o influență semnificativă asupra stabilității moleculei, crescîndu-i agregabilitatea.

3) REACȚII DE NEUTRALIZARE

Antigenele dotate cu activitate biologică (toxine, enzime, hormoni etc.) induc formarea de „anticorpi neutralizanți", care au capacitatea de a le bloca activitatea biologică. Reacția dintre aceste antigene și anticorpii corespunzători poate duce uneori la formarea de precipitate; cum însă dozele minime biologic active din asemenea antigene sînt adesea atît de mici încît nu pot asigura, prin reacția cu anticorpul, formarea unor precipitate vizibile, pentru punerea în evidență a reacțiilor de neutralizare se preferă teste specifice care pot demonstra blocarea activității biologice a antigenului cînd este pus în contact cu serul imun.

Pentru toxine, testele de neutralizare necesită de obicei probe *in vivo*, direct pe animalul de experiență sau pe organe izolate. Aceste teste se practică în două etape: 1) realizarea *in vitro* de amestecuri toxină — antitoxină (ser imun) în care toxina este păstrată în concentrație constantă (egală de obicei cu o doză limită mortală: DLM), iar antitoxina este introdusă în concentrații crescînde; 2) administrarea amestecurilor

Scanned with OKEN Scanner

astfel obținute la animale sensibile și observarea mortalității obținute în funcție de doza de antiser folosită în amestec (cantitatea cea mai mică de ser imun care poate neutraliza efectul unei DLM din toxina respectivă este denumită unitate antitoxică : U.A).

În prezența anticorpilor specifici, blocarea activității enzimatice poate fi totală sau numai parțială, însoțită sau nu de formarea unor precipitate. Activitatea enzimatică a precipitatelor imune formate este cu atît mai redusă cu cît valoarea raportului anticorp/enzimă este mai mare atît în amestecul inițial, cît și în complexul format. Între neutralizarea activității enzimatice și gradul de precipitare al amestecului nu există o relație lineară : în primul rînd, neutralizarea se poate constata înainte ca precipitatul să se formeze; în al doilea rînd, geutralizarea este maximă în prezența unui exces de anticorpi, spre deosebire de precipitare care este maximă în zona de echivalență. Neutralizarea se poate dealtfel obține și cu fragmentele Fab(t) monovalente ale Ig-anticorpi respectivi, care nu produc și precipitare.

Spre deosebire de imunoreacțiile de neutralizare a toxinelor, în cazul neutralizării enzimelor reacția poate fi inhibată de prezența substratului, care intră în competiție cu anticorpul pentru determinanții antigenici ai centrului activ catalitic (Yunis și Krebs, 1962). Această inhibiție prin competiție are un mecanism stereochimic, așa cum dealtfel demonstrează faptul că în timp ce competiția dintre anticorp și un substrat cu talie mică (tributirina în cazul esterazelor) poate bloca numai neutralizarea, lăsînd intactă capacitatea precipitantă a serului imun; dacă substratul competitiv are talie mare (acidul ribonucleic în cazul ribonucleazei) atunci se inhibă nu numai fixarea anticorpilor neutralizanți, ci și a situsurilor combinative de precipitare (Cinader, 1963).

Dacă în cazul enzimelor substratul poate anihila determinantul antigenic al centrului activ biologic, un fenomen similar poate fi indus la toxine prin formolizare, procedeu care modifică exotoxinele bacteriene în anatoxine.

Atît în cazul enzimelor, cît și al toxinelor blocarea funcției active biologic nu poate suprima total funcția antigenică a moleculei. Serurile preparate cu anatoxine au capacitate antitoxică integrală; desigur, această afirmație este valabilă numai pentru exotoxine (cap. 3), singurele care pot fi transformate în anatoxine prin formolizare.

B. REACȚII CELULARE CU ANTIGENUL

EUG. PĂUNESCU

În funcție de tipul de antigen și de condițiile de imunizare, răspunsul imun la contactul cu antigenul poate fi mediat fie de anticorpii circulanți, fie de celulele sensibilizate, ca în cazul proceselor de hipersensibilitate întîrziată (cap. 2 și 7). Răspunsul imun mediat de celule grupează o serie de reacții mult diferite între ele, cum ar fi răspunsul întîrziat la

Scanned with OKEN Scanner

antigenul solubil inoculat intradermic, manifestările unor maladii autoimune și eliminarea transplantelor tisulare. Pentru precizarea mecanismelor acestor reacții și pentru obținerea unor teste diagnostice și de evolutivitate ale manifestărilor imunității mediate celular au fost imaginate modele experimentale *in vitro* care repetă — parțial sau integral — procesele tisulare de hipersensibilitate întîrziată. Aceste teste după natura factorilor celulari interesați, pot fi grupate în trei categorii: *1*) reacții ale macrofagelor cu antigenul; *2*) reacții ale mediatorilor celulari în prezența antigenului; *3*) reacții ale limfocitelor cu antigenul.

1) REACȚII ALE MACROFAGELOR CU ANTIGENUL

Macrofagele mononucleare dețin un rol important în procesele de instalare a stării de imunitare, deoarece ele sînt capabile să recunoască substanțele străine pentru organism, să le ingere și să le digere parțial, păstrînd intactă informația antigenică, pe care o pun la dispoziția celulelor imunocompetente de memorie (cap. 2 și 5). Macrofagele peritoneale participă de asemenea și la răspunsul imun în prezența antigenului, ele putînd fi sensibilizate fie prin fixarea de anticorpi citofili, fie sub acțiunea unor mediatori moleculari liberați de limfocite.

Dintre procesele imune specifice stării de hipersensibilitate întîrziată la care participă macrofagele, trebuie citate: inhibiția migrării în prezența antigenului, imunoaderența, eliberarea de factori endogeni ca pirogenul și interferonul, suprimarea multiplicării bacteriilor intramacrofagice etc.

a) **Inhibiția migrării macrofagelor** sub acțiunea antigenului corespunzător a fost semnalată pentru prima oară de către Rich și Lewis (1928). Acești autori constată că adăugarea de tuberculină la culturi de explante de ganglioni limfatici prelevate de la cobai tuberculoși inhibă migrarea celulelor din explante; în timp ce aceeași doză de tuberculină, adăugată la culturi de explante de la cobai normali nu inhibă migrarea celulelor. Ulterior, George și Vaughan (1962) pun la punct o tehnică *in vitro* pentru estimarea cantitativă a inhibiției migrării macrofagelor în prezența antigenului, tehnică ce constituie un model *in vitro* pentru diagnosticul și studierea imunității mediată prin celule.

Testul de inhibiție a migrării macrofagelor se practică în flacoane de culturi de celule în care se introduc tuburi capilare ce conțin, tasate prin centrifugare, leucocite periferice recoltate de la un organism cu hipersensibilitate celulară. La o parte din aceste flacoane se adaugă mediu de cultură simplu, la altele mediu de cultură (199 M) cu antigenul corespunzător. Ambele serii de flacoane se incubează apoi la 37°C, timp de 24 de ore, după care se măsoară (planimetric) suprafața migrată în fiecare flacon și se aplică formula (David, 1965):

$$\frac{\text{suprafața migrării în prezența antigenului} \times 10_0}{\text{suprafața migrării în absența antigenului}} = \text{I.M.\%}$$

unde I.M.% este indicele de inhibiție procentuală a migrării în prezența antigenului. Valoarea acestui indice este subunitară pentru cazurile în care există hipersensibilitate celulară la antigenul folosit în reacție.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, valoarea indicelui de inhibiție a migrării este cu atît mai redusă cu cît este mai mare sensibilizarea organismului de la care s-au prelevat leucocitele.

Reacția de inhibiție a migrării macrofagelor se obține numai cînd organismul donator de celule manifestă o stare de hipersensibilitate celulară; migrarea leucocitelor provenite de la organisme cu reactivitate anafilactică sau de tip Arthus nu este afectată de antigenul corespunzător (Aronson, 1933). Migrarea macrofagelor cobailor tuberculoși este inhibată numai de tuberculoproteină (sau PPD); fracțiunile polizaharidice sau nucleoproteidice micobacteriene nu inhibă migrarea leucocitelor. În cazul hipersensibilității celulare față de un conjugat haptenic, inhibiția migrării se obține numai cu conjugatul integral; haptena singură nu inhibă migrarea macrofagelor (David, 1965).

Migrarea celulară din explantele de țesut limfoid se face, în culturi de țesuturi, în ordinea următoare: polimorfonucleare, limfocite, macrofage și fibroblaști. Prezența antigenului afectează în primul rînd migrarea macrofagelor, apoi pe cea a limfocitelor și mult mai slab pe cea a fibroblaștilor; inhibarea migrării polimorfonuclearelor nu este specifică (Carpenter și Brandriss, 1964).

Al-Askari și colab. (1965) constată că fenomenul de inhibiție a migrării leucocitelor are loc și în cazul imunității de transplantare: celulele alogenice de la donator inhibă migrarea leucocitelor organismului care a primit grefa de la donator.

Antigenele bacteriene, virale, fungice și proteice care dau hipersensibilitate întîrziată provoacă și inhibiția migrării macrofagelor. Inhibiția *in vitro* se poate obține cu doze mici de antigen (0,1 μg/ml), iar între concentrația antigenului și gradul de inhibiție există un paralelism, pînă la un anumit prag.

Sensibilitatea macrofagelor la antigenul imunizant apare în ganglionii limfatici regionali după 5 zile de la inocularea antigenului, iar în ceilalți ganglioni limfatici după 10—20 de zile. Sensibilitatea macrofagelor la antigen apare mai rapid decît reactivitatea tegumentară (Aronson, 1933) și testul inhibiției migrării leucocitelor în prezența antigenului pare să fie mai fidel decît intradermoreacția pentru indicarea alergiei de infecție (Dumonde, 1967) sau pentru diagnosticul encefalitei alergice (Al-Askari și colab., 1965).

Mecanismele inhibiției migrării leucocitelor. Incapacitatea macrofagelor „sensibile" de a se deplasa în prezența antigenului sugerează realizarea unei aderențe între aceste celule, care duce la imobilizarea lor. Această „aderență" trebuie corelată cu prezența antigenului și ar fi tentant să gîndim că antigenul este fixat de anticorpii citofili pentru macrofage, formînd punți intercelulare și, deci, rețele de celule. În acest caz ar trebui să fie interesați în reacție anticorpii citofili (Nelson și Boyden, 1967); există însă mai multe date care se opun acestei ipoteze, printre care trebuie semnalat faptul că inhibiția migrării leucocitelor prin antigen poate fi demonstrată atît la 5—7 zile de la imunizarea unui organism, cît și la 90—100 de zile de la imunizare, momente în care serul organismului nu conține anticorpi citofili (Gowland, 1967).

David și colab. (1965) au demonstrat că procesul de inhibiție a migrării prin antigen este dependent de metabolismul macrofagelor „sen-

Scanned with OKEN Scanner

sibile". Astfel, spre exemplu, inhibarea sintezei proteinice (prin puromicină sau analogii săi) sau a sintezei de RNA-mesager (prin actinomicină) și rifampicină previn acțiunea antigenului asupra migrării macrofagelor.

Macrofagele normale pot fi „sensibilizate" la acțiunea antimigratorie a antigenului prin amestecarea lor cu 5—10% leucocite care provin de la un organism sensibilizat (David și colab., 1964). O analiză mai detaliată a fenomenului a arătat că „sensibilizarea" macrofagelor normale se poate realiza numai în prezența limfocitelor sensibilizate : amestecarea de numai 2—5% limfocite sensibilizate cu o populație de macrofage normale duce la pozitivarea testului de inhibiție a migrării acestor macrofage (Bloom și Bennett, 1966 ; Dumonde, 1972). O acțiune similară, de „sensibilizare" la antigen a macrofagelor normale o exercită și supernatantul unei suspensii de limfocite sensibilizate, cultivate 24 de ore în prezența antigenului (Bloom și Bennett, 1966).

Aceste date au condus la concluzia că sensibilitatea macrofagului la antigen nu este intrinsecă ; ea depinde de eliberarea în mediu a unui factor activ, care nu este de tipul anticorpilor citofili, ci este eliberat de limfocit. Factorul activ limfocitar are acțiune activantă asupra metabolismului macrofagului, proces care — în ultimă instanță — duce la inhibarea migrării leucocitare. Asemenea colaborări între limfocit și macrofagele mononucleare în cursul răspunsului imun mediat celular au fost evidențiate și în cazul altor reacții dintre antigen și macrofage.

b) **Imunoaderența macrofagelor.** Termenul de „imunoaderență" este folosit pentru desemnarea mai multor procese imunologice cu mecanisme diferite.

Inocularea antigenului la un organism cu sensibilitate celulară corespunzătoare duce la „dispariția" macrofagelor din cavitatea peritoneală (Nelson și Boyden, 1967) ; această „dispariție" corespunde însă imposibilității de a mobiliza macrofagele peritoneale, deoarece — în prezența antigenului — acestea au aderat la peritoneu. Fenomenul de imunoaderență la peritoneu a macrofagelor este evidențiabil numai în imunitatea mediată celular, cu toate că, inițial (Nelson și Boyden), a fost considerat ca mediat de anticorpii citofili. Ca și în cazul inhibiției migrării leucocitare, și în procesul de imunoaderență peritoneală prezența limfocitelor sensibilizate este indispensabilă pentru realizarea fenomenului.

Un alt tip de reacție în care imunoaderența este prezentă îl constituie capacitatea macrofagului „sensibil" de a fixa pe membrana sa o serie de celule străine care au fost folosite pentru imunizare. În experimentele clasice de „imunocitoaderență" (Biozzi și colab., 1966) se folosesc pentru imunizare globule roșii de la altă specie suspendate în adjuvant Freund complet ; apoi, după 2—3 săptămîni de la inoculare, se recoltează macrofagele peritoneale și se pun în contact cu o suspensie de globule roșii similară cu cea folosită pentru imunizare. În aceste condiții, în jurul macrofagelor se vor forma rozete de globule roșii (Boyden, 1964). Imunocitoaderența de acest tip este datorită anticorpilor citofili pentru macrofage (cap. 7). Intervenția în acest proces a anticorpilor citofili, care sînt imunoglobuline de tip γ_2 ce se leagă cu fragmentul Fc numai pe celula macrofagică (limfocitele, polinuclearele, fibroblaștii etc. nu fixează acești anticorpi) (Berken și Benacerraf, 1966), pledează pentru încadrarea fenomenului de imunocitoaderență macrofagică printre reac-

țiile antigenului cu anticorpii circulanți. Totuși, faptul că anticorpii citofili pentru macrofage nu apar decît în stările de hipersensibilitate întîrziată (Boyden, 1964), obligă la o asociere a procesului cu reacțiile imune mediate celular.

Termenul de „imunoaderență" mai este uneori impropriu folosit pentru deschiderea morfologică a proceselor imune ce presupun contacte celulare între macrofag și limfocit (în insulele limfoid-macrofagice, spre exemplu), între două limfocite (activitatea „helper"), între limfocite și celulele-țintă (vezi p. 158) etc.

c) **Eliberarea unor factori endogeni macrofagici** constituie un alt rezultat al interacțiunii dintre antigen și mononuclearul macrofagic „sensibilizat".

În 1967, Atkins și colaboratorii constată că supernatantul unei culturi de macrofage „sensibile" puse în prezența antigenului, inoculat la animalul de experiență (iepure), exercită un efect termic evident. Totodată, s-a constatat că, în condiții similare, supernatantul culturilor de macrofage normale nu prezintă calități pirogene. Pe baza acestor rezultate s-a conchis că, sub acțiunea antigenului corespunzător, macrofagele organismelor cu sensibilitate imună celulară pun în libertate un factor egdogen cu activitate pirogenă. În ceea ce privește mecanismul de eliberare a acestui pirogen, deși cunoștințele noastre nu sînt suficient de detaliate, este indicat a se corela acest proces cu fenomenul de autoliză macrofagică, ca urmare a reacției lizosomale intense, observată la macrofagele „sensibile" cultivate în prezența antigenului corespunzător (Păunescu și colab., 1967).

Interferonul este un alt factor endogen liberat în culturi *in vitro*, sub acțiunea antigenului, de către macrofagele prelevate de la organism cu hipersensibilitate întîrziată. Acest proces, semnalat de către Glasgow (1966), a fost observat și în cazul limfocitelor sensibilizate (Sidney, 1971).

d) **Suprimarea multiplicării bacteriilor intrafagocitare.** În bacteriozele cu germeni facultativ intracelulari (tuberculoza, listerioza, bruceloza etc.), în care procesele de rezistență sînt strict celulare (Păunescu, 1968), macrofagul dobîndește calitatea de a suprima multiplicarea bacteriilor fagocitate și de a le reduce virulența. Astfel, în culturi de macrofage care au fagocitat micobacterii virulente se pot observa indici de fagocitoză diferiți, după proveniența fagocitului : în timp ce în culturile de macrofage normale indicele fagocitar crește în primele 5 zile ca urmare a multiplicării bacililor fagocitați, în culturile de macrofage prelevate de la organisme vaccinate BCG indicele rămîne cvasistaționar, deoarece multiplicarea intracelulară a bacililor este blocată (Păunescu, 1968).

Capacitatea macrofagului de a suprima multiplicarea bacililor fagocitați este de natură imunobiologică, deoarece nu poate fi observată decît la macrofagele prelevate la un anumit interval după administrarea vaccinului (durată care coincide cu perioada necesară instalării stării de imunitate celulară). Între cantitatea de vaccin administrat și intensitatea procesului de rezistență celulară există de asemenea un paralelism net. La animalele convalescente potențialul de rezistență al macrofagelor scade gradat, însă poate fi redobîndit mult mai rapid decît la un animal normal, în cazul unei reinfecții, care trebuie să fie făcută cu microorganismul omo-

log. De asemenea, capacitatea antibacilară a macrofagelor poate fi mult mărită printr-o injecție suplimentară de bacterii vii sau omorîte, cu condiția ca acestea să fie înrudite antigenic cu cele deja prezente în țesuturi (Mackaness, 1964 — 1967).

Specificitatea capacității macrofagului de a suprima multiplicarea bacteriilor fagocitate nu este absolută : spre exemplu, macrofagele de la animalele vaccinate BCG pot suprima și dezvoltarea intracelulară a brucelelor (Mackaness, 1968 ; Fong, și colab., 1964). Însă, în afara celor semnalate, privind răspunsul imun accelerat obținut strict cu germenul omolog, s-a mai constatat că pentru a se obține nu numai suprimarea multiplicării dar și scăderea virulenței germenului fagocitat este necesar ca macrofagul să provină de la un organism imunizat cu același germen (Fong și colab., 1964).

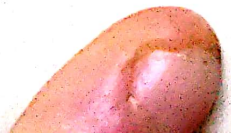
În sfîrșit, pentru specificitatea imunologică a procesului pledează și faptul că transferul rezistenței macrofagului la organisme nesensibilizate se poate obține numai pentru bacteria omologă (Mackaness, 1967).

2) REACȚII ALE LIMFOCITELOR CU ANTIGENUL

Limfocitele au capacitatea de a fixa antigenul și, în funcție de originea și sensibilizarea lor, dau reacții variate între care domină transformarea blastică și mitoza (cap. 2). Asemenea reacții pot fi reproduse *in vitro*, permițînd studiul mecanismelor imune și putînd fi folosite în scop diagnostic.

a) **Transformarea blastică și proliferarea limfocitelor.** O suspensie de limfocite prelevate de la un organism sensibilizat, dacă este cultivată în prezența antigenului, prezintă — după 20 de ore — un număr crescînd de blaști și mitoze (Mills, 1966 ; Oppenheim, 1967). Evidențierea transformării blastice se poate face cu ușurință prin estimarea procentului de forme blastice vizibile pe frotiuri realizate din cultură la diferite intervale de timp. Observarea proliferării se poate face cantitativ, prin metode variate ; a) estimarea procentuală a replicărilor cromosomiale după tratarea culturii cu colchicină ; b) estimarea autoradiografică a încorporării ^{3}H-timidinei în nucleii limfocitelor cultivate perioade diferite de timp cu antigenul ; c) determinarea prin spectrometrie de scintilație în lichide a cantității de ^{3}H-timidină încorporată într-o cultură de limfocite în prezența antigenului, prin comparație cu o cultură similară în absența antigenului (Păunescu și colab., 1973).

Efectul proliferativ al antigenului asupra limfocitelor sensibilizate a fost semnalat inițial de către Pearmin și colab. (1963) și de către Schreck (1963), care observă că tuberculina, pusă în contact cu limfocite periferice recoltate de la indivizi cu intradermoreacție pozitivă la tuberculină, induce mitoza a 5 — 12 % dintre limfocitele prezente ; în condiții similare, folosind limfocitele prelevate de la indivizi tuberculino-negativi, nu se observă mitoze decît la 0 — 0,2 % dintre limfocitele cultivate în prezența antigenului. Ulterior, Kerby (1968) și numeroși alți autori constată o relație directă între intensitatea reacției proliferative a limfocitelor în contact cu antigenul și dimensiunea intradermoreacției la antigen.



Scanned with OKEN Scanner

Transformarea și proliferarea limfocitelor în culturi *in vitro* este produsul stimulării metabolismului celular, care are loc ca rezultat al reacției dintre antigen și structurile imunoglobulinice ale membranei limfocitare, urmată de endocitarea complexului de reacție (cap. 2). Antigenul în aceste reacții poate fi : *1*) sub formă solubilă ; *2*) sub formă particulată (celulă) ; *3*) purtat de macrofage care l-au ingerat și digerat parțial.

În reacțiile de transformare și proliferare sub acțiunea antigenului, limfocitele provin de obicei de la organisme imunizate în prealabil. Reacția cu antigenul are loc atît în cazul limfocitelor prelevate de la organisme cu imunitate mediată prin anticorpi, cît și de la cele cu imunitate mediată prin celule. În primul caz, însă, reacția este asigurată cu precădere de către celulele B (cap. 2), în timp ce în cazul al doilea este dată de limfocitele T (cu precădere T_2), care dețin sensibilitatea la antigen (cap. 2). Aceste date au rezultat din studiile experimentale care au utilizat diferite procedee pentru suprimarea fie a celulelor T (șoareci congenitali atimici, timectomia, tratamentul limfocitelor cu ser anti-θ etc.), fie a celulelor B (tratament cortizonic, cu ser antilimfocitar, cu ser anti-B etc.) (Raff, 1970—1971 ; Janossy și Greaves, 1971). De exemplu, limfocitele periferice prelevate de la un șoarece imunizat și tratat 3 zile anterior cu 2,5 mg acetat de cortizon reprezintă o populație de celule timice intrinseci (limfocite T), care pot reacționa rapid la antigenul omolog sau lent la un antigen eterolog. În schimb, celulele splenice prelevate de la un șoarece similar imunizat, dar timectomizat în prealabil, iradiat X letal și reconstituit cu măduvă osoasă singeneică pretratată cu ser anti-θ (care omoară celulele T), reprezintă o populație de limfocite B, capabile să reacționeze la antigenul omolog (ducînd la apariția de plasmocite formatoare de anticorpi), dar incapabile să reacționeze în prezența unui antigen eterolog (Greaves și Janossy, 1972).

Prezența la suprafața limfocitelor a moleculelor de imunoglobuline cu structură determinată genetic face ca aceste molecule de Ig să dețină calități de determinanți antigenici (cap. 2 și 3). Inocularea de limfocite la un organism de specie diferită va duce deci la obținerea unui *ser imun antilimfocitar*, care va putea reacționa cu determinanții antigenici corespunzători de pe suprafața limfocitelor. În funcție de doza de ser antilimfocitar, limfocitele supuse acestui contact pot fi omorîte (doze mari) sau pot fi stimulate să se transforme și să prolifereze (doze mici), ca urmare a complexului anticorpi-Ig format la suprafața membranei lor (Woodruff și colab., 1967 ; Reithmüller și colab.1968). Dacă pentru obținerea serului antilimfocitar se folosesc celule T, atunci se obține un ser imun specific pentru determinanții antigenici imunoglobulinici de pe suprafața limfocitelor T (ser anti-θ) ; în condiții similare se poate obține un ser anti-B (Raff, 1970—1971).

b) **Reacția de proliferare în culturi de limfocite alogenice amestecate.** Dacă se amestecă și se cultivă *in vitro* limfocitele de la indivizi străini (limfocite alogenice, genetic diferite) și, la 48 — 72 de ore de la începutul termostatării culturii se introduce ^3H—timidină, se observă că radioizotopul este încorporat de celule într-un DNA nou-format, ceea ce reflectă proliferarea limfocitelor puse în amestec (Bain și colab., 1964).

Proliferarea în culturi de limfocite amestecate este dependentă de natura determinanților imunoglobulinici de pe suprafața celor două tipuri

de limfocite amestecate : reacția are loc numai dacă aceștia sînt diferiți. Altfel spus, reacția proliferativă se dezvoltă cu condiția ca locusurile majore de histocompatibilitate HL-A ale celor două tipuri de limfocite umane puse în amestec să prezinte incompatibilitate ; în cazuri cu identitate de HL-A nu are loc o reacție proliferativă (Andersson și colab., 1970). Răspunsul proliferativ în culturi de limfocite amestecate reflectă o recunoaștere specifică a antigenelor de histocompatibilitate (HL-A la om ; H-2 la șoarece ; AB la șobolan etc.) (cap. 3) și constituie un test potențial pentru determinarea histocompatibilității între doi indivizi (Bach și Hirschhorn, 1964).

O metodă statistică a fost dealtfel pusă la punct pentru elucidarea gradului de incompatibilitate dintre donatori, bazată pe interacțiunea în culturile de limfocite amestecate (Alling și Kahan, 1969).

Răspunsul proliferativ al limfocitelor alogenice amestecate în culturi *in vitro* reprezintă o inducere *primară* a imunității de alogrefă (Marbrook, 1967 ; Andersson și colab., 1970) ; această reacție este superpozabilă cu răspunsul primar *in vitro* pe care îl dezvoltă o cultură de limfocite puse în prezența antigenelor de transplantare alogenă (Manson și Simmons, 1969). De asemenea, răspunsul proliferativ al limfocitelor poate fi utilizat pentru recunoașterea reactivării unei stări latente de hipersensibilitate provenită din expunerea anterioară la agenți neoplazici, infecțioși sau medicamentoși, cu reactivitate încrucișată (Diener și Armstrong, 1967 ; Tao și Uhr, 1966).

Reacția de proliferare în culturi de limfocite alogenice amestecate, ca reacție de recunoaștere specifică a antigenelor de histocompatibilitate, este rezultatul stimulării limfocitelor T, care pot identifica o substanță antigenică nouă, pot prelua informația antigenică primară de la un macrofag și pot exercita o acțiune de asistență („helper") cu limfocitele B (cap. 2). Limfocitele T sînt cele care asigură inducerea primară a imunității ; ele reacționează specific cu antigenul înainte ca cooperarea cu celulele B să aibă loc (Mitchell și Miller, 1968 ; Miller și Mitchell, 1969). Eliminarea celulelor T prin timectomie duce la scăderea netă a capacității de răspuns proliferativ în culturi pe limfocite amestecate (Carlson și Schwarz, 1971). Mecanismele de inducție a *toleranței la antigene* (de histocompatibilitate) interesează tocmai limfocitele T, care — la doze reduse de antigen — manifestă blocarea reactivității ; devine astfel imposibilă cooperarea T—B (sau T_1 — T_2) ulterioară și, prin aceasta, se ajunge la lipsa de răspuns imun prin neinducerea formării de efectori imuni (anticorpi sau/ și celulele T_2) (Rajewsky și colab., 1972).

c) **Răspunsul proliferativ al limfocitelor în prezența unor mitogeni nespecifici.** Sub acțiunea unor glicoproteine cu acțiune mitogenă nespecifică, limfocitele cultivate *in vitro* suferă transformare blastică și mitoză similare cu cele induse de antigene. Principala diferență dintre proliferarea indusă de mitogenii specifici (antigene) și cei nespecifici constă în faptul că ultimii acționează la fel de intens atît asupra limfocitelor sensibilizate, cît și asupra celor nesensibilizate.

Mitogenii nespecifici au acțiune asupra unor anumite tipuri de limfocite. Astfel, spre exemplu *fitohemaglutinina* (PHA), o glicoproteină extrasă din *Phaseolus vulgaris* (Nowell, 1960 ; Ling, 1968), *concavalina A* (con. A) extrasă din *Canavalia ensiformis*, ca și mitogenul din linte (LM) extras

din *Lens culinaris* acționează asupra limfocitelor T. În schimb, *endotoxina* (lipopolizaharidul) bacteriilor Gram-negative (antigenul Boivin-Mesrobeanu), ca și streptolizina stimulează limfocitele B (Peavy și colab., 1970). *Mitogenul „pokeweed"* (extras din *Phytolacca americana*) stimulează atît limfocitele T, cît și pe cele B.

Cu ajutorul fitomitogenilor marcați radioactiv sau fluorescent s-a putut pune în evidență legarea lor pe suprafața limfocitelor (Greaves și Janossy, 1972). Densitatea și distribuția locurilor de legare a mitogenilor nespecifici este similară pentru celulele T și B, ceea ce deosebește acești mitogeni de anti-imunoglobuline (serurile antilimfocitare) ale căror locuri de legare pe celulele T sînt mult mai puțin numeroase decît cele de pe limfocitele B (Raff, 1970). Dacă legarea pe structurile Ig limfocitare se face pe mai mulți receptori și realizează o rearanjare a receptorilor, atunci are loc stimularea celulei limfocitare. Stimularea începe la circa 15 minute de la contactul cu mitogenul, printr-o creștere a sintezei de RNA și proteine (Cooper, 1968), urmată de convertirea heterocromatinei în eucromatină (Tokuyasu și colab., 1968), hipertrofia nucleolilor și citoplasmei (Inman și Cooper, 1963), sinteză de DNA (Sasaki și Norman, 1966) și, în final, diviziune celulară (Nowell, 1960).

Acțiunea mitogenilor nespecifici asupra limfocitelor, datorită similitudinii cu acțiunea agenților mitogeni specifici, a permis aprofundarea studiilor privind bazele imunității mediată celular, cinetica proliferării limfocitare și aspectele citochimice ale diferențierii celulare reversibile. Pe de altă parte, datorită selectivității de stimulare a anumitor populații de limfocite, inițierea proliferării prin mitogeni nespecifici a fost cu succes utilizată pentru aprecierea capacității de răspuns imun a unor organisme cu sindrom de imunodeficiență, care manifestă o activare redusă a proliferării limfocitelor în prezența acestor mitogeni (Oppenheim, 1968). Folosirea în paralel, pentru o aceeași populație de limfocite, a mitogenilor PHA și endotoxina permite surprinderea unei eventuale dihotomii T/B, care oferă posibilitatea interpretării reactivității imune în anumite boli sistemice, urmărirea tratamentelor biostimulatoare sau imunodepresive etc.

d) **Efectul distructiv al limfocitelor asupra celulelor-țintă.** Limfocitele expuse la celule alogenice nu numai că suferă transformare blastică și răspund proliferativ (vezi punctul b), dar dobîndesc și o capacitate imună citotoxică față de tipul de celule alogenice cu care au fost puse în contact (și care sînt denumite obișnuit cu termenul de „celule-țintă").

Koldovsky și colab. (1969) introduc fibroblaști embrionari, proveniți de la tulpina Balb-c de șoareci, într-o cultură de celule limfoide prelevate de la organisme C57BL/6. După cîteva zile de cultură amestecată (minimum 36 de ore), limfocitele C57BL/6 dobîndesc capacitatea de a aglutina fibroblaști Balb-c. Hayey și Defendi (1970) cultivă în amestec limfocite A și limfocite B și constată că, dacă limfocitele B fuseseră marcate în prealabil cu radiocrom, după 2 — 3 zile de cultivare în amestec începe să fie eliberat radionuclidul în mediu; acest experiment sugerează că, prin cultivare împreună, celulele A dobîndesc capacitatea de a deteriora limfocitele B.

Manson și Simmons (1969) incubează *in vitro* celule din ganglioni limfatici de cobai cu preparate de lipoproteină microsomală provenite din limfocitele unor cobai alogeni, care fuseseră imunizați cu hematii de oaie.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele de ganglioni limfatici astfel incubate dobîndeau capacitatea imună de a distruge limfocitele cobailor alogeni din care se preparase lipoproteina microsomală ; distrugerea lor a fost pusă în evidență prin blocarea capacității acestor limfocite de a mai produce hemoliza hematiilor de oaie (cu care fuseseră imunizate animalele de la care s-au recoltat limfocitele).

Un efect distructiv similar asupra celulelor-țintă a fost obținut și cu supernatantele culturilor de amestec (vezi p. 209), ceea ce demonstrează că — în prezența antigenului (particulat sau solubil) — limfocitul sensibilizat liberează un factor citotoxic pentru celula-țintă (Păunescu, 1972).

Testarea efectului limfocitar asupra celulelor-țintă este folosită pentru determinarea histocompatibilității între două organisme între care urmează să se realizeze transplante tisulare.

3) REACȚII ALE EFECTORILOR MOLECULARI LIMFOCITARI ÎN PREZENȚA ANTIGENULUI

Expunerea limfocitelor la mitogeni specifici (antigene) sau nespecifici (PHA) duce la eliberarea extracelulară a o serie de mediatori moleculari, care posedă calități de efectori imunitari. Tipurile de efectori și condițiile lor de eliberare nu sînt astăzi complet elucidate și constituie încă sursa mai multor rezultate și concepții discordante. Astfel, nu sînt încă cu suficientă precizie identificate diferitele tipuri de mediatori, se cunoaște încă foarte puțin structura lor chimică și mecanismele de acțiune. Există de asemenea în prezent divergențe importante în ceea ce privește condițiile în care limfocitul poate elibera un anumit efector molecular ; numai limfocitul sensibilizat poate elibera anumiți mediatori, sau și cel normal? se poate considera drept „normal" (deci : nesensibilizat) un limfocit de la un organism care trăiește în contact continuu cu numeroase surse de antigene (bacterii, virusuri, alimente, alergeni aerieni etc.)? este indispensabilă prezența unui antigen pentru liberarea anumitor mediatori? este antigenul necesar pentru ca efectorul molecular liberat să-și exercite acțiunea?

În afara acestor multiple semne de întrebare ce încă persistă (și care în parte au fost menționate în cap. 2), există totuși cîteva elemente de bază care sînt neîndoielnice și care dovedesc că limfocitele, în anumite condiții, eliberează efectori imunitari.

După Lawrence (1969), în supernatantul culturilor de limfocite sensibilizate expuse la antigen, pot fi identificați cel puțin patru factori a căror activitate este relativ mai precis definită : de transfer, mitogen, de inhibiție a migrării leucocitelor și limfocitotoxic. Acești mediatori au fost dealtfel identificați ca efectori ai unor tipuri de răspuns imun celular amintite anterior (cap. 2).

Printre produsele solubile eliberate în cursul activării limfocitelor umane sau de rozătoare (Bloom, 1971), au fost detectați factori mitogeni pentru limfocite, care au capacitatea de a accelera metabolismul DNA în culturi alogenice sau singenice de limfocite. Cînd activarea limfocitelor se face cu antigenul, atît celulele T, cît și cele B produc factori mitogeni pentru limfocite (Alm, 1971) ; producerea de mitogeni de către celulele B este condiționată de prezența limfocitelor T (Oates și colab., 1972).

Factorii mitogeni limfocitari induși prin antigen par să fie de două feluri : a) unii care necesită prezența antigenului pentru completa dezvol-

Scanned with OKEN Scanner

tare a activității lor (Valentine și Lawrence, 1969; Păunescu, 1972) și care pot eventual să conțină complexe antigen-anticorp, mitogene pentru limfocite (Moller, 1969); b) alții care nu necesită prezența antigenului pentru a-și desfășura activitatea mitogenă limfocitară (Wolstencroft și Dumonde, 1970; Păunescu, 1972).

În timp ce factorii mitogeni produși prin stimularea specifică (antigenică) sînt capabili să activeze nu numai proliferarea limfocitelor alogenice dar și a celor singeneice, factorii mitogeni produși prin stimularea nespecifică (PHA) pot activa numai proliferarea limfocitelor autologe (Kasakura, 1970). În cazul limfocitelor umane, Mackler și colab. (1972) semnalează că mitogenul nespecific concavalina A induce formarea de limfokine care pot stimula atît proliferarea limfocitelor alogenice, cît și a celor singenice.

Semnificația biologică a factorilor mitogeni limfocitari constă în amplificarea și reglarea răspunsului limfocitar în cursul inducerii și manifestării reacțiilor imune, în particular a celor mediate prin celule (cap. 7). De asemenea, date mai recente (Mackler și colab., 1972) evidențiază faptul că, în cursul producerii de anticorpi, celulele T activează celulele B prin eliberarea de factori solubili care facilitează răspunsul limfocitelor B la antigen.

Semnificația clinică a limfokinelor rezultă din implicarea lor în leziunile tisulare ce însoțesc procesele autoimune, eliminarea alogrefelor și distrucțiile tumorale (cap. 7, 9 — 19).

C. COMPLEMENTUL ȘI REACȚIILE IMUNE LA CARE PARTICIPĂ

S. PURICE

În 1901, Bordet și Gengou separă complementul (C) ca o entitate imunologică aparte de antigen și anticorp. Progresele mari făcute în cunoașterea C s-au datorat în mare măsură realizărilor tehnice moderne în separarea și analiza diverselor fracțiuni proteice serice.

Complementul sau alexina este de fapt un grup de 11 componente ale căror proprietăți fizico-chimice sînt în mare parte cunoscute (tabelul nr. 13). Aceste componente circulă liber și sînt repartizate uniform în sînge. Din punct de vedere funcțional sînt inactive; în anumite situații pot fi activate, proces care are un caracter secvențial în sensul că urmează o anume ordine. Prin activare, componentele capătă proprietăți enzimatice. Activarea poate cuprinde toate componentele sau numai o parte. Componentele activate au ca simbol $C'_{1a} \ldots C'_{9a}$. Situațiile care pot induce activarea sînt multiple și numai parțial cunoscute. În urma procesului de activare componentele capătă o serie de proprietăți biologice importante și pot deveni agresive pentru structurile morfologice pe care s-au fixat sau pentru cele vecine, declanșînd fenomene locale de inflamație. Aceste proprietăți au fie un rol protector, complementul fiind un element important în mecanismele imune de apărare, fie un rol distructiv pentru structurile organismului. În sfîrșit, pot coexista elementele protectoare cu cele dăunătoare.

Scanned with OKEN Scanner

Organismul dispune de un mecanism complex şi eficient de control al activării complementului, în sensul limitării stricte a activării prin condiţiile locale. O activare exagerată sau generalizată poate constitui un element patogenic important în unele boli.

Tabelul nr. 13

Componentele sistemului complement

Componentele		Greutate moleculară	Mobilitate electroforetică	µg/ml ser	Viteză de sedimentare
C_1	C_{1q}	400 000	2	190	11S
	C_{1r}	168 000	B	?	7S C_1 18S
	C_{1s}	79 000	L_2	120	4S
C_4 (B_1E)		240 000	B_1	50—430	10S
C_2		117 000	B_2	10—30	6S
C_3 (B_1C)		185 000	B_1	500—1 300	9,5S
C_5 (B_1F)		185 000	B_1	75	
C_6		125 000	B_2	60	
C_7		?	B_2	?	
C_8		150 000	1	urme	
C_9		79 000	L	urme	

Principalele componente C au următoarele proprietăţi :

C'_1, prezentă în serul proaspăt în fracţiunea euglobulinică, este un complex macromolecular format din trei unităţi moleculare ; menţinerea lor sub formă de complex este datorită Ca^{++}. C'_{1q} este cel care poartă gruparea reactivă de unire pe complexele antigen—anticorp. Cantitatea de C_{1q} fixată pe aceste complexe este modelată şi în partea frenată de ceilalţi doi parteneri din cadrul complexului C'_1. Funcţia C'_r nu este binecunoscută ; prezenţa ei este indispensabilă activării C'_1. Componenta C'_s este numită şi proesterază, deoarece, după activarea C'_1, capătă proprietăţi enzimatice, putînd esterifica *in vitro* unele substrate cu caracter de esteri sau comportîndu-se *in vivo* ca o polipeptidază, acţionînd asupra C'_2 şi C'_4, singurele molecule care îi servesc de substrat în organism.

C'_4 este o glicoproteină. Aminele primare (NH_3, hidrazina) o inactivează distrugîndu-i capacitatea de a reacţiona cu C'_{1a}.

C'_2 este o pseudoglobulină sensibilă la căldură ; poate fi inactivată şi de p-hidroximercuribenzoat, care-i blochează grupările —SH ; oxidarea cu iod îi măreşte mult activitatea.

C'_3 este o glicoeuglobulină inactivată, ca şi C'_4 de aminele primare. Rezistă la căldură, însă prin depozitare se degradează. Este inactivată *in vitro* şi *in vivo* de veninul de cobra.

Dintre celelalte componente, C'_5 şi C'_9 au fost obţinute în forme purificate, iar restul sub forme funcţional purificate.

1) MECANISMELE DE ACTIVARE A COMPLEMENTULUI

Pînă în prezent sînt cunoscute două căi de activare : una descrisă sub numele de hemoliză imună, care constă într-o activare secvenţială a tuturor componentelor (de aici şi numele de activare completă) ; a doua

cale constă în activarea componentelor terminale (de la C_3 pînă la C_9). Cele două căi coexistă în organism și uneori se pot suplini în cazul cînd, datorită unei tare moștenite, unele dintre componente lipsesc sau sînt în cantitate insuficientă.

Activarea completă (hemoliza imună). Procesul de activare a tuturor componentelor complementului a fost amănunțit studiată *in vitro*, folosindu-se drept complex antigen — anticorp hematiile de oaie (E) pe care s-au fixat anticorpi antihematie de oaie obținute la iepure (A). Complexul EA pus în contact cu complementul diverselor specii de mamifere duce la hemoliză, ca urmare a activării complementului.

Activarea constă în scindarea moleculelor de C′ în două sau mai multe molecule: una din ele este produsul principal, adică $C'_{1a}\ldots C'_{8a}$, care la rîndul ei activează altă componentă de complement; ceilalți produși de scindare, numiți secundari, sînt molecule care pot fi active (adică posedă diverse proprietăți biologice) sau pot fi inactive biologic. Fenomenul de scindare are loc pe suprafața EA, la care produsul principal de scindare ($C_{1a}\ldots C_{9a}$) aderă strîns, fie pentru un timp limitat, fie definitiv, formînd în ordinea aderării lor diverși intermediari celulari (E A $C'_{1a}\ldots$ EA $C'_{1,2,3,4,5,6,7,8,9a}$). Activarea complementului are loc și în faza fluidă din jurul EA, componentele de complement reacționînd în aceeași ordine secvențială; produșii care se formează în procesul activării din faza fluidă sînt desemnați prin simbolurile $C'_1\ldots C'_9$ (fig. 23).

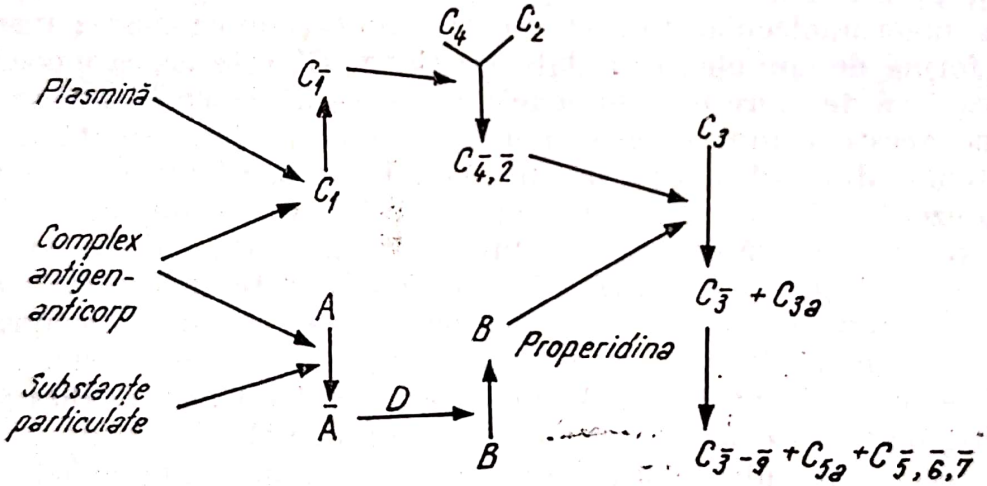


Fig. 23. — Căile de activare a complementului (după Ruddy și colab., 1972). (activarea completă și a componentelor terminale).

Mecanismele de control al activării complementului. Activarea este modulată și menținută în anume limite, compatibile cu homeostazia generală a organismului, de o serie de mecanisme care frenează excesul de activare dăunător structurilor morfologice vecine zonei de activare.

Normal, în ser există un inhibitor al C'_1-esterazei (forma activă a C'_1 care se poate găsi fixată pe hematie sau liberă în faza lichidă), care este o α_2-globulină cu o viteză de sedimentare de 3 S, cu G.M. 90 000 și o concentrare în ser de 150—180 μg/ml (simbolul inhibitorului este C_1—INH sau EI). Această moleculă se combină stoichiometric cu enzima, inhibîndu-i activitatea enzimatică. Combinația se face cu C'_s; nu se combină cu C'_1 neactivat. Viteza de combinare cu C'_1-esteraza (simbolul ei pe hema-

tie este C'_{1a}, iar în faza fluidă C'_1) este mai mică decît aceea a reacţiei C'_{1a} cu C'_4 şi C'_2, aşa că procesul activării complementului se continuă, numai că el este parţial frenat de inhibitor. Acţionînd asupra C'_1 din faza fluidă împiedică acţiunea vasodilatatorie a acesteia, frenînd în acelaşi timp şi acţiunea ei asupra componentelor 2 şi 4, care ar duce la formarea unui complex activ $C_{4.2a}$ în faza fluidă ($C'_{\overline{42}a}$) cu proprietăţi evidente de creşterea permeabilităţii capilare. Este de semnalat că inhibitorul are o acţiune mult mai completă şi mai largă, intervenind în fenomenele de coagulare şi de fibrinoliză, precum şi în inhibarea unor substanţe vasodilatatorii, care nu apar în hemoliza imună.

În serul uman normal există în cantitate redusă (25 μg/ml) o β_2-globulină, cu G.M. 100 000, denumită C'_{3b} -inactivator (C'_{3b} INA) sau KAF. Acest inactivator scindează molecula C'_{3b} în două fragmente: C'_{3c} (β_1A) şi C'_{3b} (α_2D). În felul acesta diminuă cantitativ componenta C'_3 activată (C'_{3b}).

A fost descrisă o β_1-globulină care inactivează C_6 fixat pe intermediarul celular $EAC_{1a.4.2a.3.5.6}$.

În serul normal uman se găseşte o carboxipeptidază care scindează carbonul terminal al argininei din moleculele de anafilatoxine C'_{3a} şi C'_{5a}, inactivîndu-le. Această enzimă, denumită inactivator al anafilatoxinei, are G.M. 310 000 şi migrează electroforetic cu α_2-globulinele.

În afara inhibitorilor, activarea complementului este moderată cantitativ şi de faptul că unii produşi intermediari sînt extrem de instabili (de ex., $EAC_{1a.4.2a}$ sau $EAC_{1a.4.2a.3.5.6}$).

Factorii care declanşează mecanismele de activare a complementului. În esenţă, activarea completă a complementului necesită în prealabil o fază denumită *specifică*, de formare a complexelor antigen—anticorp, pe care apoi se fixează nespecific C'_1 amorsînd activarea secvenţială a celorlalte componente. Această fază este nespecifică în sensul că C'_1 se poate fixa pe porţiunea E_c a moleculei de anticorp din complexele antigen—anticorp de cele mai variate tipuri. Dacă antigenul pe care s-a fixat specific anticorpul face parte din membrana celulară (hematie sau celulă nucleată) atunci activarea complementului are loc pe suprafaţa celulei, aşa cum s-a arătat în hemoliza imună, şi mai puţin în faza fluidă din vecinătatea ei; dacă complexul antigen—anticorp este solubil activarea are loc în faza fluidă. Nu toate tipurile de complexe fixează însă complementul. Nu se cunoaşte în întregime de ce această fixare nu are loc întotdeauna, se cunosc însă o serie de factori care ţin de antigen şi anticorp şi favorizează fixarea şi activarea secvenţială a complementului.

Anticorpii de tip IgM sînt foarte buni activatori de complement; IgG nu activează întotdeauna complementul, IgA excepţional, iar IgE şi IgD deloc. În unele condiţii experimentale este suficientă o singură moleculă de IgM pentru a iniţia un locus de activare a complementului şi de cel puţin două molecule de IgG pentru a declanşa fixarea componentei C'_1. Anticorpii nu pot induce activarea decît după ce s-au fixat de antigenul respectiv, reacţie care este strict specifică. În această reacţie, anticorpul îşi modifică configuraţia spaţială în sensul că gruparea reactivă cu C'_1 din porţiunea F_c a anticorpului este pusă în posibilitatea de a reacţiona cu prima porţiune a complementului (cap. 4). Fixarea de complement este maximă pe complexele antigen—anticorp formate la punctul de echivalenţă. Antigenul

Scanned with OKEN Scanner

poate influența capacitatea unui anticorp în a fixa componenta C_1, impunînd probabil o anume configurație anticorpului, improprie în unele cazuri pentru evidențierea locusului reactiv cu C_1' din porțiunea F_c (cap. 4); așa este cazul antigenului de tip D sau tiroglobulinei.

Tipul de Ig poate condiționa activarea complementului sub mai multe aspecte. De exemplu, IgM, care este un activator excelent al complementului, produce liza intensă atunci cînd activarea se face pe hematie, însă este relativ ineficient în a produce liza celulelor nucleate; în schimb, IgG, activator mai slab, produce numai liza moderată a hematiilor în hemoliza imună, însă este puternic litic cînd acționează pe celule nucleate.

Modificarea configurației imunoglobulinelor pentru a fixa complementul poate fi indusă și prin alte mijloace (agregarea moleculelor de IgG prin căldură sau cu ajutorul bisdiazobenzidinei). În acest caz nu mai este vorba de acțiunea antigenului.

Inițierea activării complementului în absența interreacției antigen — anticorp a fost numită nespecifică. Termenul este ambiguu pentru că ceea ce caracterizează activarea este tocmai nespecificitatea ei, în sensul că diverse complexe antigen — anticorp o pot induce. *In vitro*, activarea nespecifică poate fi produsă (în afara IgG agregate), de particulele de caolin, de fibrina coagulată, de hematii tratate în prealabil cu tripsină sau în condiții în care fixarea se face într-un mediu fluid cu încărcare slabă electrică. Importanța activării nespecifice *in vitro* nu este cunoscută. Unele imunoglobuline anormal structurate și care apar în diverse afecțiuni pot fixa spontan complementul.

Cantitatea de C_1' este fixată inegal de anticorpii de diverse specii de animale. De asemenea, nici toate speciile de complement (de la diverse animale) nu sînt activate la fel de bine de aceeași specie de anticorp. În general, anticorpii umani fixează destul de prost complementul de om, cel mai bine este activat complementul de cal și de iepure, iar cel de cobai, deși mult folosit în cercetări *in vitro*, este slab fixat de anticorpii de om, pisică și porc. Aceste diferențe probabil că țin în parte de diversele tipuri de imunoglobuline care formează populația de anticorpi.

Experimental, la cîini, o leziune în hipotalamusul posterior sau în substanța reticulată mezencefalică vecină duce la creșterea activității hemolitice a serului. O creștere asemănătoare a fost obținută după administrări repetate de substanțe simpaticomimetice.

În afara importanței biologice a activării complete a complementului, activarea este folosită *in vitro* în testele zise de fixare a complementului, utilizate cu scop diagnostic. Metoda se bazează pe dispariția activității hemolitice a complementului în reacție, complementul fixîndu-se într-o primă etapă a reacției pe diverse complexe antigen — anticorp și care în acest mod sînt indirect identificate ca fiind prezente. Complementul fixat pe țesuturi poate fi identificat relativ ușor folosind un ser anticomplementar cuplat cu fluoresceină. Apariția fluorescenței în lumină ultravioletă este semnul indirect al prezenței complementului pe secțiunea de țesut. Componentele de complement detectate cu aceste tehnici sînt C_3' și C_4', care sînt solid și persistent legate de membranele celulare în mecanismul activării complementului (este așa-numita fixare de lungă durată).

Scanned with OKEN Scanner

2) FENOMENE ASOCIATE CU ACTIVAREA COMPLEMENTULUI

Au fost amplu studiate *in vitro* un număr de fenomene care se produc conex cu activarea complementului. În determinismul acestora joacă un rol, uneori important, produşii principali sau secundari de activare. Semnificaţia acestor fenomene *in vivo* este incomplet cunoscută. Ele pot fi grupate în : fenomene citotoxice, de favorizare a inflamaţiei şi a coagulării sîngelui.

Fenomene citotoxice. Hemoliza imună, un exemplu de fenomen citotoxic, a fost studiată experimental *in vitro*, însă se poate întîlni şi *in vivo* în anemii hemolitice autoimune lizate în acelaşi mod. Reacţii asemănătoare sînt întîlnite în unele boli denumite autoalergice (boala Hashimoto, orhita după parotidita epidemică). Bacterioliza este un fenomen de citoliză; în cazul salmonelozelor sau al unor suşe de coli, liza bacteriană se produce dacă asupra microbilor au acţionat anticorpi de tipul IgM pe care s-a fixat complementul. Uneori este nevoie de acţiunea lizozimului seric, înainte sau după activarea complementului, pentru a induce citoliza bacteriilor. Liza vibrionului holerei *in vivo*, la cei imunizaţi, sau *in vitro* prin testul de imobilizare a treponemiei se produce condiţionat de activarea complementului.

Activarea primelor componente joacă rol în neutralizarea virusurilor. Neutralizarea virusului herpesului simplu cu antiseruri specifice se produce şi este mult potenţată dacă în ser se găsesc componentele 1 şi 4 ale complementului. Aceste componente pot fi suplinite în oarecare măsură de C'_2 şi C'_3. Celulele pot suferi acţiunea citotoxică a complementului nu numai ca urmare a activării acestuia într-un mecanism imun de tipul celui arătat (de tip hemoliză imună).

În procesul activării complementului pe oricare din cele două căi arătate apare în faza fluidă din jurul zonei de activare un complex trimolecular intermediar $C'_{5.6.7}$ care se poate fixa nespecific pe membrana unei celule nesensibilizate, neangajate imunologic şi întîmplător prezentă în vecinătatea acestei zone. Complexul $C'_{5.6.7}$ formează cu aceste celule un intermediar celular stabil susceptibil de liză de către componenta a 8-a şi a 9-a a complementului.

Procesul de citoliză din rejecţia de grefă este datorit unui mecanism de imunitate celulară, în care complementul nu ia parte direct. Factorii umorali, printre care şi complementul, joacă totuşi şi ei un rol. În cursul rejecţiei cantitatea de imunoconglutinine este crescută, iar în rejecţii severe scade cantitatea componentei C'_2, iar catabolismul componentelor C'_4 şi C'_3 creşte mult.

Fenomene inflamatorii. Activarea completă a complementului sau a componentelor lui terminale induc fenomene inflamatorii foarte complexe. Ele sînt strîns intricate şi se produc de obicei localizat în zona activării, îmbrăcînd uneori un aspect mai general. Nu numai complementul este răspunzător de aceste fenomene inflamatorii. Vasodilataţia cu creşterea permeabilităţii vaselor duce la acumulare de ser şi de celule, crescînd volumul inflamaţiei. Aceste proprietăţi le au în special fragmentele C'_{3a} şi C'_{5a} şi mai puţin C'_{1a} şi C-kinină. *In vitro* ele duc la eliberare de histamină din mastocite şi la contracţia musculaturii intestinului. În lipsa

C'_{1a} INH, fenomenele vasodilatatorii și de creștere a permeabilității iau o importanță exagerată. C'_{3a} și C'_{5a}, substanțe cu G.M. în jur de 40 000, au fost numite și anafilatoxine, pentru că produc simptome foarte asemănătoare cu anafilaxia.

Chemotaxia. Unele substanțe rezultate din activarea complementului (C'_{5a}, complexul $C'_{\overline{5,6,7}}$, factorul chemotactic rezultat din C'_3) se găsesc în concentrații maxime în zona activării, influențînd migrarea leucocitelor spre această zonă potrivit unor gradiente de concentrație, care scad cu cît ne depărtăm de zona activării.

Fagocitoza este dependentă de sistemul anticorp — complement. Factorii rezultați din activarea complementului sau unii anticorpi care favorizează fagocitoza au fost numiți opsonine. Celulele care au fixate pe membrană C'_{3b} sînt fagocitate rapid de polinucleare și macrofage, iar acele cu complexul $C'_{1,2,3,4,5,6,7}$ suferă o distrugere accelerată atunci cînd sînt puse în contact cu o suspensie de limfocite. Complementul joacă un rol important în fenomenele de fagocitoză; acesta este probabil rolul lui biologic cel mai de seamă.

Nu este cunoscut rolul complementului în digerarea intracelulară a materialelor fagocitare. S-a sugerat că el ar induce formarea în lizolecitine intracelulare care ar acționa asupra membranei lizozomale, facilitînd eliberarea de enzime în vacuolele în care se face digestia substanțelor fagocitate.

Fagocitoza este favorizată de două fenomene care sînt dependente de complement; imunoaderența și imunoconglutinarea (cap. 5).

Imunoaderența complexelor antigen — anticorp — complement la eritrocite, la trombocite sau la leucocitele polinucleare este condiționată de prezența fragmentului C'_{3b}, care acționează enzimatic pe un receptor de natură mucopeptidică de pe membrana hematiei. Reacția este dependentă de temperatură. Papaina clivează de pe suprafața hematiei substanța mucopolipeptidică, abolind reacția de imunoaderență. Aglomeratul complex imunohematie (trombocit) suferă o fagocitoză accelerată.

Imunoconglutinarea. Fragmentul C'_{3b} și mai puțin C'_4 fixate pe un complex antigen — anticorp induc, printr-un fenomen de autostimulare, apariția în ser de anticorpi anti-C'_{3b} și C'_4 numiți imunoconglutinine și care sînt autoanticorpi. Acest material aglutinat este apoi ușor fagocitat. Imunoconglutininele au rol protectiv în infecții. Titrul lor *in vivo* este un semn indirect de cantitatea de complement fixată în organism. El este crescut în infecții și într-o serie de boli de etiopatogenie neclară ca: lupusul eritematos difuz, artrita reumatoidă, miastenia gravă, silicoza, guta.

Relația dintre mecanismele activării complementului și coagularea sîngelui. Unele substanțe, ca fragmentul C'_{5a} și enzimele lizosomale, care apar în procesul inflamator, au un efect distructiv, printre altele, și asupra membranei bazale vasculare în zonele în care aceste substanțe sînt produse în exces. Afectarea membranei bazale duce la activarea factorului Hageman (factorul XII). Acest factor activat generează noi fenomene, care se intrică între ele, și anume:

Scanned with OKEN Scanner

— activarea antecedentului tromboplastinic plasmatic (PTA) care induce apoi secvenţial activarea coagulării intravasculare;

— activarea plasminogenului în plasmină prin intermediul a doi factori serici (proactivatori şi activatori de plasminogen); plasmina, substanţa activă, digeră fibrina şi fibrinogenul producînd fibrinoliză. În faza fluidă din zona inflamaţiei apare fibrina şi produşii de scindare din fibrină şi fibrinogen;

— activarea kallicreinei serice care induce la rîndul ei două fenomene:

1) scindarea kininogenului seric în bradikinină, polipeptidă cu nouă aminoacizi, care îşi manifestă prezenţa în două feluri: este vasoactivă (produce vasodilataţie şi creşterea permeabilităţii vasculare) şi induce apariţia în ser a unei proteine active numite fragmentul Kf care potenţează mult acţiunea componentului C'_{1a} pe substratul natural C'_4 şi C'_2, ducînd implicit la generarea unei cantităţi sporite de C'_3-convertază şi în final activarea unei cantităţi sporite de complement;

2) favorizează chimiotactismul neutrofilelor.

Inducerea fibrinolizei are la rîndul ei o serie de consecinţe, plasmina avînd o acţiune proteolitică mai largă:

— scindează C'_3, formînd anafilatoxina C'_{3a} care este o substanţă vasoactivă;

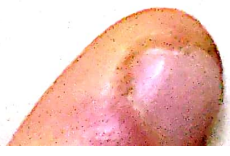
— scindează C'_1, formînd C'_{1a}, ducînd implicit la activarea complementului;

— scindează factorul XII, formînd fragmente denumite de prealbumină, care sînt mai eficiente în activarea kallicreinei serice decît factorul XII. Fragmentele nu mai posedă celelalte acţiuni ale factorului Hageman.

Consecinţele finale ale acestor interacţiuni multiple sînt: a) modularea (moderarea) procesului de coagulare prin inducerea fibrinolizei şi digestia factorului XII; b) potenţarea inflamaţiei prin substanţe vasoactive şi chimiotactice şi prin favorizarea activării complementului.

Iată deci, cum inflamaţia şi activarea complementului duc printr-un lanţ complicat de mecanisme, în care intervine ca fenomen central activarea coagulării intravasculare, la o mai mare potenţare a fenomenelor inflamatorii şi de activare a complementului, în timp ce coagularea — fenomen ce poate fi nociv organismului — este moderată ca amploare. Potenţarea fenomenelor inflamatorii care la rîndul lor ar putea lua o dezvoltare exagerată sînt modelate de intervenţia C'_1-INH. Acesta în afara acţiunii descrise asupra componentei C'_1 are un efect inhibant asupra kallicreinei, plasminei şi PTA, ca şi asupra factorului XII activat. Acest şir de evenimente formează un nou sistem de echilibru între inflamaţie şi coagulare jucînd un rol important în homeostazia fenomenelor amintite.

Văzută sub prisma utilităţii lor pentru economia organismului, fenomenele asociate cu activarea complementului joacă un rol important de protecţie în imunitate (activitate de opsonină şi bactericidă). Factorii rezultaţi din activarea complementului sînt însă şi reactanţi importanţi într-o serie de fenomene imunoalergice de diverse tipuri (prin complexe imune toxice şi citotoxice) întîlnite în patologie. Uneori cele două aspecte, protectiv şi patogen, coexistă.



Scanned with OKEN Scanner

3) COMPONENTELE COMPLEMENTULUI

Filogenie. Rechinul este primul animal în scara vieţuitoarelor la care au fost identificate componentele de complement 1, 2, 3, 4, 9 şi au fost evidenţiate ambele căi de activare a complementului; de asemenea la animalele mai inferioare, cum ar fi crabul. Veninul de cobra induce în ser apariţia proprietăţii de a liza hematiile, probabil printr-un mecanism de activare a componentelor terminale.

Ontogenie. La embrionul de om, sinteza diverselor componente începe foarte devreme : componenta a 3-a în săptămîna a V-a, iar componentele C'_4, C'_1 şi C_1-INH în săptămînile XI—XIV. Toate componentele sînt prezente după luna a 3-a şi a 4-a, însă abia după naştere ele sînt secretate la nivelul cantităţilor din viaţa adultă.

Cele mai multe componente sînt sintetizate de macrofage. În cercetările care indicau ca loc de formare ficatul, splina, pulmonul şi ganglionii limfatici, de fapt macrofagele din aceste organe sintetizau complementul. Cele trei componente ale lui C'_1 sînt formate şi asamblate sub forma trimoleculară în celulele epiteliului intestinal.

Metabolismul proteinelor serice care formează complexul complement. Cantitatea acestor proteine în sînge, care este între 5 şi 10 % din totalul proteinelor serice, reprezintă rezultanta unui echilibru dinamic stabilit atît de raportul dintre sinteza şi catabolismul lor, cît şi de raportul dintre concentraţia lor în sînge şi cea din spaţiul extracelular. Cercetări utilizînd componente marcate cu izotopi (C'_3, C'_4, C'_5, C'_{1q}) au arătat un ritm de catabolizare între 0,9 şi 2,7 % din totalul proteinelor plasmatice pe oră. Aceasta înseamnă că în 24 de ore aproximativ jumătate din cantitatea de proteine ce formează complementul seric sînt reînnoite. Complementul are catabolismul cel mai înalt din totalul proteinelor serice. Acest turnover ţine, pe de o parte, de procesul degradativ obişnuit, comun proteinelor serice, la care însă se adaugă un proces de activare zilnică în care se consumă complement; este cunoscut că unii din produşii de activare au un timp de înjumătăţire mult mai scurt decît al componentei inactive din care derivă (C'_{4i}—C'_{3i}). În anume condiţii patologice, catabolismul complementului este exagerat. Acest fenomen nu este întotdeauna echilibrat de o sinteză crescută. Sînt cazuri cînd sinteza depăşeşte consumul (infecţii bacteriene), alteori este deprimată, ca de pildă în lupusul eritematos difuz, glomerulonefrita acută sau edemul angioneurotic ereditar, unde s-a arătat că produşi rezultaţi din activarea complementului deprimă sinteza de proteine din complexul alexic.

Metodele de dozare a complementului seric sînt de două feluri : tehnici care se folosesc de una din proprietăţile complementului atunci cînd el este activat sau tehnici de imunodifuziune cu ajutorul cărora se dozează cantitativ diverse componente. Rezultatele sînt exprimate deosebit în unităţi biologice diferite ca semnificaţie, după funcţia complementului care este testată sau în mg substanţă/ml ser. Titrul complementului seric apreciat după oricare din metode este o constantă a organismului, el variază de la specie la specie. La acelaşi individ el poate fi modificat de diverse condiţii patologice. Nu este modificat în condiţiile imunizării active. Există un grad relativ de corelaţie între titrurile complementului seric obţinut prin diverse tehnici.

Scanned with OKEN Scanner

4) PATOLOGIA COMPLEMENTULUI

Datele prezentate sînt în cea mai mare parte rezultatul unor cercetări analitice în condiţii de laborator; ele reuşesc să contureze, totuşi, cu destulă acurateţă rolul complementului în organism. Date suplimentare care să întregească în special cunoştinţele noastre asupra importanţei complementului, asupra ponderii fenomenelor în care el joacă un rol important în organism, pot fi obţinute studiind la om sau animal cazurile de lipsă congenitală sau de anomalii întîlnite în complexul complementului. Investigarea componentelor de complement în relaţie cu diverse boli poate adăuga un plus de informaţie cunoştinţelor noastre în această direcţie.

Deficienţe moştenite în componentele complementului la animale. Au fost identificate tulpini de cobai sau iepuri la care lipsea una din componentele C′ (4, 5 sau 6), fapt care antrena incapacitatea activării C. În toate cazurile însă, animalele manifestau rezistenţă la infecţii, deoarece rămînea prezentă una din cele două căi de activare a complementului. Dispariţia căii de activare a componentelor terminale este legată totuşi de o anume deficienţă în reacţiile naturale bactericide, aşa cum s-a arătat la şoarecii fără C, precum şi în producerea reacţiilor inflamatorii de tip Arthus (la iepure). Este cunoscut că administrarea de venin de cobra *in vivo* la animale normale diminuă foarte mult componenta C'_3 şi suprimă calea de activare a componentelor terminale care condiţionează acest tip de inflamaţie.

Rejecţia de grefă de piele se face cu întîrziere într-un număr mare de cazuri de animale deficitare în C'_6. În deficitul de C'_5 rejecţia se face normal; dacă se diminuau fenomenele de imunitate celulară prin administrare de ser antilimfocitar, rejecţia era mult mai întîrziată la animalele deficitare în C'_5. Este probabil că în rejecţia de grefă complementul să joace un rol secundar ca importanţă fenomenului de imunitate celulară (cap. 8).

Deficienţe şi anomalii moştenite la om în structura şi căile de activare a complementului interesează diferite componente.

C'_1-INH. Lipsa acestuia este asociată cu o boală congenitală numită edem angioneurotic ereditar, care se manifestă clinic intermitent, prin agravări şi perioade de sănătate aparentă. În perioadele de acutizare apar brusc zone de edem (angioendem) pe tegumente, uneori în zona laringelui sau în peretele intestinului. Edemul laringian cînd este foarte dezvoltat poate duce la moarte prin asfixie. Edemul intestinal se manifestă clinic prin diaree şi colici intestinale.

Boala are o transmitere autosomală dominantă; la homozigoţi inhibitorul lipseşte în sînge, iar la heterozigoţi pot apărea două situaţii: la circa 85 % din ei este scăzut la aproximativ 15—20 % din valoarea normală, iar la restul de 15 % în sînge se găseşte inhibitor nefuncţional. Acesta este antigenic la fel cu inhibitorul normal, aşa că la imunodifuziune se comportă ca şi cel normal (tehnicile care îl dozează prin această metodă îl găsesc cantitativ normal sau chiar crescut). Celelalte proprietăţi însă sînt anormale. Crizele sînt declanşate de activarea întîmplătoare a factorului XII.

Diagnosticul sugerat clinic trebuie confirmat prin laborator. Titrul complementului seric exprimat în UH_{50} nu este modificat; C'_1-INH

apreciat prin imunodifuziune poate dispare sau este mult scăzut; în cazuri rare este nevoie să se demonstreze absența lui funcțională.

C'_1. Au fost descrise cazuri rare de deficit în cantitatea de C'_{1q} și C'_{1r} din complexul C'_1.

Deficitul de C'_{1q} este combinat cu alte deficiențe imunologice, ca scăderea cantității de imunoglobuline sau hipotrofia de țesut limfatic și scăderea numărului limfocitelor circulante. C'_{1q} este moderat scăzut (50—60 % din normal) în agammaglobulinemiile legate de cromosomul X sau în cazurile în care această anomalie este asociată cu un sindrom congenital limfopenic. Scăderi moderate apar uneori în hipogammaglobulinemiile cîștigate. În aceste cazuri, scăderea este determinată de un proces de hipercatabolizare a componentei C'_{1q}. *In vitro* s-a arătat că IgG are un efect stabilizator și de întîrziere a metabolizării componentei C'_{1q}. Imunoglobulinele G sînt scăzute în acest sindrom. C'_{1q} este foarte mult scăzut în sindroamele imunodeficitare moștenite autosomal recesiv (forme limfopenice). Scăderea C'_{1q} antrenează o scădere în activitatea hemolitică a complementului.

C'_{1r}. Deficitul acestei componente are un caracter moștenit pe bază autosomală. Cinci din cei zece indivizi semnalați ca avînd acest defect au o viață normală. Din ceilalți 5, 3 au murit. Tulburările pe care le aveau bolnavii constau în erupții cutanate și artralgii, asociate cu glomerulonefrită cronică și într-un caz cu infecții curente respiratorii și otită cronică. Componenta C'_{1r} era dispărută în sînge, C'_{1q} avea valori normale, iar C'_{1s} era scăzută la jumătate; activitatea hemolitică a complementului era extrem de mult scăzută. Activarea componentelor terminale ale complementului cu venin de cobra era normală. Serul nu avea acțiune bactericidă, nici de imunoaderență, fenomene care ar explica în parte tendința la infecții a celor ce au acest deficit.

C'_2. Deficiențele evidențiate la un număr foarte mic de persoane se moștenesc sub formă predominant autosomală. Homozigoții au cantități sub 5 % din normalul cantității de C'_2, iar heterozigoții 30—60 %. Activitatea hemolitică a serului este mult scăzută, ca și cea bactericidă și de imunoaderență, în cazul în care pentru determinarea acestora două din urmă se folosesc metode de activare completă a complementului. În cazul în care puterea bactericidă este testată cu metode care folosesc activarea componentelor terminale această proprietate este prezentă. Clinic, unele persoane cu acest defect sînt sănătoase. Deficitul este întîlnit cu frecvență semnificativ crescută în lupusul eritematos difuz, dermatomiozită și purpura vasculară. În etiopatogenia acestor boli ar putea intra o agresiune mai facilă a organismului de virusuri și suprimarea unor fenomene de toleranță imună.

Pentru C'_4 au fost descrise 10 tipuri de mobilitate electroforetică deosebită, rezultate din diverse feluri de a se grupa a trei subtipuri deosebite după viteza de migrare într-un cîmp electric (tipul C, A, A_1).

Pentru C'_3 sînt cunoscute 12 feluri de variante electroforetice. Din acestea două sînt mai des întîlnite: C'_3F (componentă rapidă) și C'_3S (componentă lentă). La europeni, cele două tipuri sînt la fel de frecvente; C'_3F este rar întîlnit la negrii din America și aproape deloc la popoarele asiatice. Fiecare din variantele principale, care formează 80 % din canti-

Scanned with OKEN Scanner

tatea de C'_3, este însoţită de o aglomerare minoră anodică de molecule de C'_3. Controlul genetic este dependent de o pereche de gene alele codominante autosomale; cantitatea de C'_3 produsă de fiecare este aproximativ egală. Sînt semnalaţi 7 membri ai unei familii, aparent sănătoşi şi care au concentraţia componentei C'_3 la jumătate din cantitatea normală, moleculele fiind toate de acelaşi tip (F sau S). Aceste cazuri au modificat complicînd aspectul genetic în sensul existenţei unei a treia gene alele neexprimate (C'_3-) în locusul C'_3 de control genetic al componentei respective; această genă nu induce formarea de molecule de C'_3. În cazurile amintite, indivizii aveau un echipament genetic constînd într-o genă ce induce producerea de C'_3 şi a acestei gene C'_3- al cărei efect este nul asupra producerii de molecule de C'_3. Efectul final este o cantitate de C'_3 în sînge la jumătate din cea normală.

C'_5. A fost semnalat un copil cu un defect funcţional (cantitativ C'_5 era normal în ser) al moleculului de C'_5, moştenit autosomal şi care suferea de infecţii grave repetate cu germeni Gram-negativi, starea lui s-a ameliorat foarte mult după transfuzii de plasmă. Serul copilului, al mamei şi al altor rude nu avea proprietatea de a favoriza fagocitarea substanţelor particulante microbiene sau nemicrobiene. Componenta C'_5 era normală ca structură antigenică şi migrare electroforetică, ca şi activitatea hemolitică a serului.

Factorul B-properdinic (GBG) are un mare polimorfism structural. În ser se găsesc cel puţin 5 componente. Ca structură este probabil un tetramer format din două subunităţi. Patru gene alele (două obişnuite Gb^F şi Gb^S şi două rare Gb^{F1} şi Gb^{S1}) ţin sub dependenţa lor sinteza acestui factor. Migrarea diferită într-un cîmp electric nu este însoţită de modificarea altor proprietăţi ale moleculei.

Anomalia căii de activare a componentelor terminale a fost semnalată la un caz caracterizat clinic printr-o tendinţă exagerată la infecţii care prezenta anomalii complexe în sistemul complementului şi care constau în: hipercatabolismul componentei C'_3, lipsa factorului B-properdinic şi a C'_3—INACT. Activarea componentelor terminale nu putea fi amorsată nici după adaosul factorilor lipsă, ceea ce indică o tulburare mai complexă a proteinelor serului. Bacterioliza, fagocitoza şi chimiotactismul erau deficitare şi explicau, cel puţin parţial, prezenţa infecţiilor repetate. Se crede că un defect ar fi datorit lipsei unui inhibitor în activarea componentelor terminale; aşa s-ar explica distrugerea exagerată de C'_3 component cheie în acest tip de activare.

Modificări ale complexului complementului apărute la om în cursul unor boli. Nu există un paralelism între creşterea titrului de anticorpi specifici şi creşterea complementului. S-a arătat experimental că febra indusă prin supraîncălzirea animalului prin mijloace fizice este însoţită de creşterea activităţii alexice. Uneori, endocardita bacteriană subacută, septicemia, malaria cuartă, infecţiile cu $ECHO_9$ sînt însoţite de scăderea complementului (scad primele 4 componente). Formele cu complement

Scanned with OKEN Scanner

scăzut evoluează cu glomerulonefrită asociată, cu purpură și poliartrită, iar în sînge prezența factorului reumatoid. Aspectele descrise permit emiterea ipotezei că agentul infecțios la anume indivizi poate induce formarea de complexe imune toxice circulante, care, fixate în țesuturi, induc inflamația de tip Arthus, cu rol în patogenia bolii.

Cazurile de hepatită acută evoluînd cu sindrom reumatic, erupții cutanate și semne de vasculită difuză (purpură, necroze vasculare tegumentare), cu sau fără prezență de antigen Australia în sînge, manifestă hipocomplementemie. Aceste cazuri sînt diagnosticate drept hepatită lupoidă. În leziunile vasculare se găsesc depozite de antigen Australia, IgG și C'_3. Complementul seric rămîne scăzut atîta timp cît boala are un caracter general și antigenul Australia este prezent în sînge.

În lupusul eritematos difuz, aproximativ 2/3 din cazuri evoluează cu scăderea componentelor C'_1, C'_2, C'_4, C'_3, C'_9 și uneori CI_1—INH; scăderea este mare și are importanță în diagnosticul bolii. Ea apare în perioadele de acutizare și în special în formele cu afectare renală. Atunci cînd bolnavul intră într-o stare de remisiune, complementul revine spre normal; prima se normalizează componenta C'_9 și ultima componenta C'_4.

În artrita reumatoidă, titrul complementului este foarte scăzut în lichidul sinovial și aceasta o deosebește de alte forme de artrită. Sînt scăzute componentele 1, 4, 2, 3 și 9, catabolismul componentei C'_3 este accelerat, iar leucocitele din lichidul sinovial conțin incluziuni de imunoglobuline și de componente C'_{1q}, C'_4 și C'_3. Fluidul articular este, de asemenea, bogat în diverse agregate proteice compuse din factor reumatoid, imunoglobuline G, C'_{1q}, imunoglobuline M, fibrinogen, DNA, răspunzătoare de activarea complementului. Într-un număr mic de cazuri, titrul complementului seric de obicei crescut în această boală este găsit scăzut. Aceste cazuri evoluează cu afectare plurivisceralâ, au evoluție gravă și formează o grupă de bolnavi la care aspectul clinic îmbracă forme mixte între artrita reumatoidă și lupusul eritematos difuz.

În hemoglobinuria paroxistică nocturnă, hematiile au proprietatea congenitală sau cîștigată de a fi foarte sensibile la efectul litic al complementului, activat pe calea clasică sau pe cea a componentelor terminale.

În afecțiuni evoluînd cu imunoglobuline anormale titrul complementului este influențat variabil. Prezența de imunoglobuline M (în mielom, limfosarcom) este asociată uneori cu scăderea puterii hemolitice a complementului. Scad componentele C'_1, C'_2, C'_3 sau C'_1, C'_4, C'_2, C'_3 fiind normală.

Imunoglobulinele G monoclonale evoluează de obicei cu complement normal. A fost descris un caz de tip K cu proteine precipitabile la rece, asociat cu scăderea puterii hemolitice complementare și a componentelor 4 și 3.

În crioglobulinele mixte de tip IgM—IgG caracterizate clinic prin hepatosplenomegalie, adenopatie, artralgii, vasculită (purpură de obicei) și nefrită, activitatea hemolitică a complementului, ca și componentele C'_{1q}, C'_4 și C'_2 pot fi reduse cantitativ în sînge, C'_3 rămînînd normală.

Scanned with OKEN Scanner

Neoplasmele sistemice sau de organ evoluează de obicei cu complement seric crescut. Rareori în limfoame se poate întîlni scăderea componentei C'_2 şi a titrului hemolitic al complementului.

În hepatitele cronice severe ca prognostic şi cirozele hepatice (nutriţionale sau postnecrotice) cu evoluţie gravă se întîlneşte deseori scăderea puterii hemolitice complementare şi a componentelor 3 şi 4. Cum catabolismul componentei C'_3 este normal, iar titrul hemolitic revine la normal odată cu ameliorarea clinică, scăderile sînt probabil determinate de o sinteză defectuoasă.

În glomerulonefrita acută poststreptococică, titrul hemolitic al complementului este mult scăzut, revenind la normal odată cu ameliorarea clinică; cel mai greu se normalizează C'_3 şi C'_5. În 1/3 din cazurile de glomerulonefrită cronică, evoluînd cu activitate hemolitică complementară scăzută C'_1, C'_4 şi C'_2 sînt normale, iar C'_3 şi factorul D sînt mult scăzute. Imunofluorescenţa evidenţiază depozite granulare pe zona epitelială a membranei bazale, formate din IgG şi C'_3. Uneori nu se evidenţiază imunoglobulină, ci factorul B şi componenta C'_3. Serul acestor bolnavi are proprietatea de a distruge componenta C'_3 dintr-un ser normal. Aceste date sugerează că activarea complementului este de tipul activării complete în majoritatea cazurilor; îmbracă totuşi în 30% din cazuri forma activării componentelor terminale. Cele două căi de activare pot coexista. Scăderea mare a componentei C'_3 este determinată de hipercatabolizarea ei, însă şi de o sinteză defectuoasă.

În sindromul Goodpasture, studii de imunofluorescenţă arată o fixare de imunoglobulină şi componentă C'_3, cu aspect liniar continuu pe faţa endotelială a membranei bazale. Imunoglobulinele sînt anticorpi antimembrană bazală fixatori de complement, reacţia imunologică declanşată este de tip citotoxic, iar activarea complementului de tipul activării complete.

★

Datele asupra complementului prezentate în capitolul de faţă subliniază complexitatea mare a sistemului. Metodele introduse în ultimii ani au permis stabilirea de proprietăţi biologice la nivel molecular. Complementul joacă un rol important atît în imunitate, cît şi în unele reacţii imunoalergice (prin complexe imune sau de tip citotoxic) întîlnite în patogenia unor boli. În cunoaşterea acţiunii complementului *in vivo* persistă încă multe goluri. Pînă în prezent nu au fost găsite metode de a modula acţiunea complementului în scop terapeutic.

BIBLIOGRAFIE

Al-Askary S., David J. R., Lawrence H. S., Thomas L., J. exp. Med., 1965, *122*, 1143.
Alling D., Kahn B. D., Transplantation, 1969, *8*, 1
Andersson J., Killander D., Möller E., Möllea G., J. exp. Med., 1970, *131*, 355.

Scanned with OKEN Scanner

ARONSON J. D., J. Immunol., 1933, *25*, 1.
ARRHENIUS S., *Immunochemistry*, Macmillan Publ., New York, 1907.
ATKINS E., BODEL P., FRANCIS L., J. exp. Med., 1967, *126*, 357 ; Ann. Int. Med., 1972, *76*, 65.
BACH F., HIRSCHHORN K., Science, 1964, *143*, 813.
BAIN B., VAS M. R., LÖWENSTEIN L., Blood, 1964, *23*, 108.
BENACERRAF B., GREEN I., PAUL W. E., Gold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1967, *32*, 569.
BERKEN A., BENACERRAF B., J. exp. Med., 1966, *123*, 119.
BIOZZI G., STIFFEL C., MOUTON D., LIACOPOULOS-BRIOT M., DECREUSE-FOND C., BOUTHILLIER I., Ann. Inst. Pasteur, 1966, *110*, (suppl.), 7.
BLOOM B. R., Adv. Immunol., 1971, *14*, 268.
BLOOM B. R., BENNET B., Science, 1966, *153*, 80 ; Fed. Proc., 1968, *27*, 13.
BOYD W. C., *Fundamentals in Immunology*, Interscince Publ., New York, 1956.
BOYDEN S. V., J. exp. Med., 1951, *93*, 107 ; Immunology, 1963, *7*, 474.
BRUCKNER I., PURICE S., St. cerc. fiziologie, 1957, *3*, 4.
CAMPBELL D. H., BULMAN N., Fortschritte Chem. org. Naturstoffe, 1952, *9*, 443.
CARLSON L. S., SCHWARZ M. R., în *Leucocite Culture Conference*, sub red. MCINTYRE O. R., Appleton Publ., New York, 1971, p. 403.
CARPENTER R. R., BRANDRISS M. W., J. exp. Med., 1964, *120*, 1 231.
CINADER B., Brit. Med. Bull., 1963, *19*, 219.
COOPER H. L., J. Biol. Chem., 1968, *243*, 34.
DANYSZ J., Ann. Inst. Pasteur, 1902, *16*, 331.
DAVID J. R., J. exp. Med., 1964, *120*, 1 189 ; 1965, *122*, 1 125 ; J. Immunol., 1964, *93*, 274.
DE KRUIF P., NORTHROP J. H., J. Gen. Physiol., 1922, *5*, 127.
DIAMOND L. K., DENTON R. L., J. Lab. Clin. Med., 1945, *31*, 821.
DIENER E., ARMSTRONG W. D., Lancet, 1967, *II*, 1 281.
DUMONDE D. C., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 9.
FONG J., CHIN D., ELBERG S. S., J. exp. Med., 1964, *120*, 885.
GEORGE M., VAUGHAN J. H., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, *111*, 514.
GLASCOW L. A., J. Bacteriol., 1966, *91*, 2 185.
GLENNY A. T., BARR M., J. Path. Bact., 1932, *35*, 91 ; J. Path. Bact., 1925, *28*, 279.
GRABAR P., Ann. New York Acad. Sci., 1957, *69*, 591.
GRANGER G. A., KOLB W. P., J. Immunol., 1968, *101*, 111.
GREAVES M. F., JANOSSY G., în *Cell Interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 143.
HAUROWITZ F., Ann. Rev. Microbiol., 1953, *7*, 389.
HEIDELBERGER M., Bacteriol. Rev., 1939, *3*, 49 ; J. exp. Med., 1933, *58*, 137 ; 1936, *63*, 737 ; 1937, *65*, 995 ; 1940, *71*, 271.
HEYEY P., DEFENDI V., Science, 1970, *168*, 133.
HOLM G., în *Leucocyte Culture Conference*, sub red. MCINTYRE O. R., Appleton Publ., New York, 1971, p. 516.
INMAN D. R., COOPER H. L., J. Cell Biol., 1963, *19*, 441.
ISLIKER H. C., *Advances in Protein Chemistry*, Academic Press, New York, 1957, *12*, 387.
JANOSSY G., GREAVES M. F., Clin. exp. Immunol., 1971, *9*, 483 ; 1972, *11*, 3.
JONES F. S., J. exp. Med., 1927, *46*, 303.
KAPLAN A. P., SCHREIBER A. D., Fed. Proc., 1972, *31*, 624.
KABAT E. A., MEYER M. M., *Experimental Immunochemistry*, Ch. C. Thomas Publ., Springfield, Illinois, 1971.
KASAKURA S., J. Immunol., 1970, *105*, 1 162 ; 1970 *225*, 507.

Scanned with OKEN Scanner

KERBY G. R., Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, 904.

KOLDOVSKI P., TURANO A., FADDA G., J. Cell Physiol., 1969, *74*, 31.

LANDSTEINER K., *The Specificity of Serological Reactions*, Harvard Univ. Press, Cambridge, 1945.

LAWRENCE H. S., Adv. Immunology, 1969, *11*, 195 ; *Mediators of Cellular Immunity*, Academic Press, New York, 1969 ; J. Clin. Invest., 1957, *36*, 908.

LING N. R., *Lymphocyte stimulation*, North-Holland Publ., Amsterdam, 1968.

MACKANESS G. B., J. exp. Med., 1964, *120*, 105 ; Brit. Med. Bull, 1967, *23*, 52 ; Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, 337.

MACKLER B. F., WOLSTENCROFF R. A., DUMOMDE D. C., Nature, 1972, *239*, 139.

MANSON L. A., SIMMONS T., Transpl. Proc., 1969, *1*, 498.

MARBROOK J., Lancet, 1967, *II*, 1 279.

MARRACK J. R., *The Chemistry of Antigens and Antibodies*, Med. Reseach Council (Brit.), Spec. Raports Series, nr. 230, 1938.

MIDDLEBROOK G., DUBOS R., J. exp. Med., 1948, *88*, 521.

MILLER J. P. A. P., MITCHELL G. F., Adv. Exp. Med. Biol., 1969, *5*, 455.

MILLS J. A., J. Immunol., 1966, *97*, 239.

MITCHELL G. F., MILLER J. F. A. P., J. exp. Med., 1968, *128*, 821.

MUTSAARS W., GREGOIR T. E., C.R. Soc. Biol., 1936, *123*, 144.

NELSON D. S., BOYDEN S. V., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 15.

NORTHROP J. H., DE KRUIF P. H., J. Gen. Physiol., 1933, *4*, 655.

NOWELL P. C., Cancer Res., 1960, *20*, 462.

OATES C. M., BISSENDEN J. F., MAINI R. N., PAYNE L. N., DUMONDE D. C., Nature, 1972, *239*, 137.

OPPENHEIM J. J., Immunology, 1967, *12*, 89 ; Fed. Proc., 1968, *27*, 21.

OUCHTERLONY O., Acta Path. Microbiol. Scand., 1948, *25*, 186.

PAULING L., J. Amer. Chem. Soc., 1940, *62*, 2 643 ; 1955, *77*, 4 308 ; *Lectures in Immunochemistry*, Acad. Press, *4*, 1956 ; J. Amer. Chem. Soc., 1944, *66*, 330.

PĂUNESCU EUG., Ftiziologia, 1968, *17*, 11 ; Microbiol., Parazitol., Epidemiol., 1968, *18*, 349 ; Ftiziologia, 1972, *21*, 449.

PĂUNESCU EUG., MUȘĂȚEANU R., STOINESCU M., ZAHARESCU C., St. cerc., biochim., 1967, *11*, 279.

PĂUNESCU EUG., POPESCU I., ȘERBESCU A., St. cerc. biochim., 1970, *13*, 69.

PĂUNESCU EUG., VASILESCU F., STOINESCU M., VASILE D., MOINESCU S., Probl. de tuberculoză, 1973, *13*, 212.

PEARMIN G., LYNCETTE R. R., FITZGERALD P. N., Lancet, 1963, *1*, 637.

PEAVY D. L., ADLER W. H., SMITH R. T., J. Immunol., 1970, *105*, 1 453.

PERLMANN P., în *Leucocyte Culture Conference*, sub red. MCINTYRE O. R., Appleton Publ. New York, 1971, p. 517.

POL J. P. G. H., Z. Immunitatsf., 1929, *61*, 99.

PURICE S., Teză de doctorat, I. M. F., București, 1963.

PURICE S., GHELERTER L., GRAGOI T., LUNGU N., Med. Int., 1969, *2*, 23.

PURICE S., FICA V., MATEI I., Med. Int., 1967, *7*, 19.

RAFF M. C., Immunology, 1970, *19*, 637 ; Transpl. Rev., 1971, *6*, 52.

RAJEWSKY K., BRENIG C., MELCHERS I, în *Cell Interactions*, sub red. L. G. SILVESTRI, North-Holland Publ., Amsterdam — Londra, 1972, p. 196.

RICH A. R., LEWIS M. R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1928, *25*, 596.

SASAKI M. S., NORMAN A., Nature, 1966, *210*, 913.

SCHRECK R., Amer. Rev. Resp. Dis., 1963, *87*, 734

Scanned with OKEN Scanner

SIDNEY R., în *Leucocyte culture conference*, sub red. McINTYRE O. R., Appleton Press, New York, 1971, p. 538.

SINGER J. M., PLOTZ C. M., Amer. J. Med., 1956, *21*, 888 şi 893.

TAKAHASHI Y., ONODERAT T., YAMAMOTO K. I., J. exp. Med., 1961, *114*, 555.

TAO T. W., UHR J. W., Science, 1966, *151*, 1 096.

THOR D., JUREZIZ R. E., VEACH S. R., MILLER E., DRAY S., Nature, 1968, *219*, 755.

TOKUYASU K., MADEEN S. C., ZELDIS L. J., J. Cell Biol., 1968, *39*, 630.

TOMCSIK J., *Bacterial Anatomy*, Cambridge Univ Press, Cambridge, 1956.

VALENTINE F. T., LAWRENCE H. S., Science, 1969, *165*, 1 014.

WIENER A. S., *Rh-Hr Blood Types*, Grune & Stratton Publ., New York, 1954.

WOLSTENHOLME W., KNIGHT J. Complement, Churchill Publ., Londra, 1965.

WOLSTENKROFT R. A., DUMONDE D. C., Immunology, 1970, *18*, 597.

WOODRUFF M. F. A., REID B., JAMES K., Nature, 1967, *215*, 591.

WURMSER R., FILITTI S., Biochim., Biophys. Acta, 1950, *4*, 238.

Scanned with OKEN Scanner

7. PROCESE ŞI MECANISME DE HIPERSENSIBILITATE IMUNOLOGICĂ

EUG. PĂUNESCU

A. DEFINIŢIE, DELIMITARE, CLASIFICARE

În practică prin termenul de „proces imunologic" se înţelege de obicei instalarea unei stări refractare, în care organismul manifestă o creştere a rezistenţei faţă de anumiţi agenţi lezionali externi, indusă în urma contactului prealabil cu agentul patogen corespunzător (boală, vaccinare, transfer pasiv etc.). Există însă o altă serie de situaţii în care, în urma contactului cu un astfel de agent, organismul devine mai sensibil la factorul respectiv; în asemenea cazuri se vorbeşte despre o *stare de hipersensibilitate* (sinonim: „sensibilitate" sau „alergie").

Fenomenele de hipersensibilitate cuprind toate caracteristicile esenţiale oricărui proces imunologic: pentru a apare şi a se dezvolta este indispensabilă stimularea prealabilă a organismului cu un anumit antigen; între momentul stimulării şi cel al manifestării sensibilităţii este necesară existenţa unei perioade de latenţă; declanşarea fenomenelor de hipersensibilitate se poate face numai cu antigenul complet sau haptena antigenului care a realizat stimularea iniţială; organismul sensibilizat sintetizează anticorpi sau produse similare care sînt strict specifice pentru antigenul sensibilizant.

Fenomenele de hipersensibilitate fac parte integrantă din procesele imunologice; cel mai adesea, infecţiile naturale, cu germeni bacterieni sau virali, declanşează mecanisme imunologic specifice care duc atît la o creştere a rezistenţei faţă de agentul infectant, cît şi la o sensibilizare faţă de unele componente ale sale. Astfel, spre exemplu, dacă unui animal de experienţă (cobai) i se administrează o serie de injecţii cu culturi omorîte prin căldură de pneumococ tip III, aceasta face ca animalul să se vaccineze: o injecţie ulterioară cu cultură vie de pneumococ tip III, în doze care provoacă moartea unui animal normal, nu dă boală şi nici nu duce la moartea cobaiului vaccinat. Procesul este cunoscut sub numele de *imunizare activă*.

Dacă la un asemenea animal vaccinat se inoculează însă intravenos numai polizaharidul obţinut din culturi de pneumococ tip III, atunci, în cîteva minute, animalul face un şoc mortal. În acest caz este vorba de o stare de hipersensibilitate — cunoscută sub numele de *hipersensibilitate de tip anafilactic* — deoarece o doză similară din acelaşi polizaharid, administrată unui animal normal, nu are nici un efect vizibil.

Dacă acelaşi polizaharid (tip III) este administrat pe cale intradermică cobaiului vaccinat, se obţine local — în 4—6 ore — o reacţie inflamatorie şi hemoragică, ce în final se necrozează. O asemenea reacţie nu poate fi provocată la un animal normal, ceea ce dovedeşte de asemenea

Scanned with OKEN Scanner

existenţa unei stări de *hipersensibilitate* (*de tip Arthus*) prezentă la animalul imunizat activ.

În sfîrşit, dacă animalelor vaccinate cu pneumococ tip III li se inoculează intradermic o proteină extrasă din culturi de pneumococ de orice tip, se constată local apariţia unui alt fel de reacţie inflamatorie, care se manifestă „cu întîrziere" (după 12—48 de ore de la injecţia antigenului) şi care este cunoscută sub numele de *hipersensibilitate de tip întîrziat*.

Este deci evident că vaccinarea antipneumococică conduce atît la creşterea rezistenţei la infecţia omologă, cît şi la sensibilizarea complexă şi variată a organismului faţă de diverşi constituenţi chimici ai bacteriei.

Aceleaşi procese complexe sînt constatate şi în cazul altor infecţii, cu salmonele, brucele, streptococi, micobacterii etc. Hipersensibilitatea de tip „întîrziat" a fost de mult timp identificată la cazurile cu infecţii cu bacilul tuberculozei şi constituie substratul reacţiei la tuberculină; de aceea ea este cunoscută sub numele de *hipersensibilitate de tip „tuberculinic"*.

Infecţiile cu micobacterii (tulpina B.C.G. spre exemplu) provoacă în plus un alt tip de sensibilitate care are drept caracter particular eterogenitatea sa: în primele 7—25 de zile de la infecţia cu tulpina B.C.G. organismul respectiv prezintă o stare de marcată hipersensibilitate faţă de bacteriile Gram-negative şi faţă de toxinele acestora: endotoxina O şi neurotoxina (Păunescu şi Mesrobeanu, 1964). Această stare particulară de sensibilitate, nespecifică imunologic, este cunoscută sub numele de *hipersensibilitate de tip Sanarelli-Shwartzman*.

Este deci de reţinut că există mai multe tipuri de sensibilizări, care pot fi induse de un acelaşi antigen şi care de cele mai multe ori coexistă.

Schematic, sub numele de *fenomene de hipersensibilitate* se înţelege ansamblul următoarelor reacţii imunologice:

I. *Hipersensibilitate specifică*: a) imediată (sau umorală) de tip anafilactic sau de tip Arthus; b) întîrziată (celulară sau de tip tuberculinic).

II. *Hipersensibilitate nespecifică*: de tip Sanarelli-Shwartzman.

Sub aspect filogenetic, procesele de hipersensibilitate se dezvoltă în paralel cu celelalte procese imunitare specifice, adică odată cu apariţia ţesutului limfoid: monocelularele, metazoarele, plantele şi animalele nevertebrate nu posedă capacitatea de a prezenta fenomene de hipersensibilitate (cap. 1).

Originea limfoidă a proceselor imunologice în general şi a celor de hipersensibilizare în particular rezultă dealtfel şi din datele aduse de cercetările care au demonstrat locul şi mecanismele de formare a anticorpilor la nivelul acestui ţesut, în celulele plasmocitare (cap. 2). Participarea Atc ca mecanism de bază a fost demonstrată nu numai în procesele de vaccinare şi imunizare activă (cap. 5), ci şi în cazul proceselor de hipersensibilitate de tip imediat (vezi p. 181): şocul anafilactic este rezultatul lezării celulelor histamino-producătoare de către complexul antigen—anticorp, iar fenomenele de tip Arthus sînt rezultatul unor procese de alertare a permeabilităţii pereţilor vasculari ca urmare a dezvoltării unei reacţii între anticorpii precipitanţi şi antigenul respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește fenomenele de hipersensibilitate de tip întîrziat, unde anticorpii (citofili pentru macrofage) nu dețin rolul fundamental, investigațiile efectuate au demonstrat de asemenea originea limfoidă a proceselor.

O serie de cercetători (Turk, 1967; Spector, 1967 etc.) au putut evidenția *modificările caracteristice care survin la nivelul țesutului limfocitar* în cursul procesului de imunizare. Asemenea studii au fost făcute, în paralel, cu antigene înrobate în adjuvant simplu * sau Freund complet **, deoarece pentru inducția stării de hipersensibilitate de tip întîrziat este necesar adjuvantul Freund complet. Dealtfel, administrarea antigenului în Freund simplu duce în final la producerea de anticorpi γ_1 (anticorpi circulanți Ig E), iar utilizarea adjuvantului Freund complet duce la producerea de anticorpi γ_2 (Ig G care conțin anticorpi citofili, opsonizați pentru macrofage și anticorpi fixatori de complement).

Pentru studiul modificărilor limfoide ce au loc în cursul proceselor de imunizare se preferă ca loc de inoculare a antigenului sensibilizant fie urechea animalului (cobai, iepure), fie regiunile plantare, deoarece ganglionii limfatici respectivi — auricular și popliteu — drenează în exclusivitate și în întregime teritoriul interesat. Acești ganglioni, și în special cel auricular de la cobai, sînt foarte slab activi din punct de vedere funcțional (ganglioni „oligosintetici"). Ei prezintă la periferie o corticală subțire, net separată de medulară, care este destul de săracă în celule plasmatice. Corticala are cîțiva mici foliculi primari, cu formațiuni centrale germinative foarte slab active.

Dacă în urechea animalului se injectează antigenul în adjuvant Freund simplu, atunci, pînă la 5—6 zile de inoculare, practic nu se observă modificări în structura ganglionilor limfatici auriculari. Apoi apar în corticală semne de activare a centrilor germinativi foliculari, iar medulara începe să se bureze cu celule plasmatice în care — prin tehnici de imunofluorescență — pot fi puși în evidență anticorpi specifici. Acești anticorpi, precipitanți sau nu, pot fi puși în evidență ulterior, cam în a 7-a sau a 8-a zi de la inocularea antigenului și în sîngele circulant.

Dacă însă antigenul este administrat în adjuvant Freund complet, atunci modificările în ganglionul limfatic încep să fie vizibile încă din cea de-a doua zi de la inoculare, cînd se constată creșterea foliculilor germinativi, suprafețele ocupate de aceștia extinzîndu-se din corticală în medulară, fapt pentru care au fost denumite „arii paracorticale" (Oort și Turk, 1965). Aceste suprafețe, în ziua a 4-a de la inocularea sensibilizantă, ajung să ocupe cam o treime din ganglionul limfatic; concomitent, în aceste arii apar numeroase celule pironinofile mari (cunoscute și sub numele de „imunoblaști"), care ajung să constituie pînă la 10% din numărul total al celulelor prezente pe amprenta ganglionară și pînă la 20% din totalul celulelor prezente în aria paracorticală. În acest moment, corticala propriu-zisă nu prezintă modificări importante; unii foliculi pot fi văzuți în cortex, însă imunoblaștii nu par să fie corelați cu aceste structuri. Medulara, în acest stadiu, ajunge să fie comprimată sub forma unui șanț îngust, ca urmare a lărgirii masive a ariilor paracorticale; în medulară, abia în

* Lanolină 15 p. + ulei de vaselină 85 p.

** Adjuvantul Freund complet conține în plus 5 mg/ml micobacterii, omorîte prin căldură și uscare, sau ceară D (1 mg/ml amestec).

Scanned with OKEN Scanner

a 6-a zi de la inoculare apar primele celule plasmatice, care dealtfel sînt în număr redus. Însă, încă cu o zi mai înainte (a 5-a de la inoculare) se poate demonstra pozitivarea intradermoreacţiei, moment care urmează cam la 24 de ore după apariţia explozivă a imunoblaştilor (Turk, 1967).

Sub aspect morfologic, imunoblaştii sînt caracterizaţi prin absenţa reticulului endoplasmic, printr-o citoplasmă buratã cu ribosomi dispuşi în rozete sau în grămezi de 3—8 elemente, un aparat Golgi proeminent, mitocondrii cu cristale neregulate, nucleu rotund sau oval, cu 1—2 nucleoli proeminenţi, cu cromatină densă la periferie şi cu aspect destrămat în centru (Binet şi Mathé, 1962). Fiind lipsite de reticul endoplasmic, este de presupus că asemenea celule nu pot secreta imunoglobuline (anticorpi) (Păunescu, 1967) şi dealtfel tehnicile de imunofluorescenţă nu au putut pune în evidenţă asemenea substanţe în citoplasma imunoblaştilor. Aceste celule conţin însă lizosomi (Diengdoh şi Turk, 1965), formaţiuni subcelulare care se găsesc în toate celulele dotate cu capacităţi fagice şi deci cu potenţialul de a îngloba şi hidroliza molecule antigenice.

Imunoblaştii au fost puşi în evidenţă şi în ganglionii limfatici regionali după inocularea antigenului în adjuvant Freund simplu; în aceste cazuri, ei au fost identificaţi de-a lungul joncţiunii cortico-medulare şi au fost consideraţi ca precursori ai celulelor plasmatice, care sintetizează anticorpii circulanţi. Pentru transformarea imunoblaştilor din ariile paracorticale în limfociţi mici — celulele efectoare în procesele de hipersensibilitate de tip întîrziat — există în prezent o serie de argumente care converg. Astfel, dacă în cea de-a 4-a zi de la inocularea antigenului sensibilizant se observă în aria paracorticală un mare număr de imunoblaşti, a doua zi suprafeţele apar burate cu limfociţi mici, care par să fi luat locul imunoblaştilor. În acelaşi sens argumentează studiile care au utilizat baze purinice şi pirimidinice marcate radioactiv (^{3}H-timidina): aceste substanţe sînt rapid încorporate în DNA al imunoblaştilor, iar după 12—24 de ore de la încorporare, ^{3}H-timidina a fost regăsită autoradiografic într-o serie de limfociţi mici, însă în cantitate pe jumătate decît cea evidenţiată iniţial în imunoblaşti. Aceasta pledează pentru afirmaţia că, prin diviziune, imunoblaştii dau naştere la limfociţi mici. Pentru aceeaşi afirmaţie argumentează în plus şi studiile care au folosit administrarea antimetabolitului metotrexat, care inhibă sinteza DNA în imunoblaşti şi împiedică procesul de diviziune al acestora: administrarea acestei substanţe are ca rezultat final prevenirea creşterii numerice a limfocitilor mici în aria paracorticală în cea de-a 5-a zi de la inocularea antigenului şi, concomitent, blocarea procesului de apariţie a stării de hipersensibilitate de tip întîrziat (Turk, 1967).

Diferenţelor, în ceea ce priveşte mecanismele de inducţie, existente între hipersensibilitatea de tip imediat (umorală) şi cea de tip întîrziat (mediată celular), le corespund şi o serie de diferenţe în manifestarea acestor procese, ca urmare a unor mecanisme patogenice distincte. Aceste deosebiri pot fi grupate într-o serie de aspecte, care cuprind: *a*) inducerea procesului; *b*) timpul de latenţă pînă la instalarea sensibilităţii; *c*) caracterele răspunsului de hipersensibilitate; *d*) mecanismul de producere a reacţiei de hipersensibilitate; *e*) posibilităţile de inhibiţie ale reacţiei de răspuns; *f*) transferul pasiv (tabelul nr. 14).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul nr. 14

Caracterele esențiale ale diferitelor tipuri de hipersensibilitate

Caracterul	Hipersensibilitate specifică			Hipersensibilitate nespecifică, tip Sanarelli-Shwartzman
	imediată		întîrziată	
	tip anafilactic	tip Arthus		
a) Inducerea procesului :				
— inocularea antigenului	fără adjuvant	fără adjuvant	cu adjuvant	fără adjuvant
— locul modificărilor ganglionare	în medulară	în medulară	în corticală	—
b) Timpul de latență pînă la manifestarea sensibilității	8—10 zile	7—8 zile	4—5 zile	1—2 zile
c) Caracterele răspunsului de hipersensibilitate :				
— tipul de antigen	variat	variat	proteic	endotoxină
— capacitatea haptenei de a declanșa răspunsul	pozitivă	pozitivă	negativă	—
— specificitatea imunologică	largă	largă	strictă	nespecifică
— specificitatea suportului proteic	absentă	absentă	esențială	nespecifică
— timpul necesar pentru dezvoltarea reacției	cîteva minute	15—30 min	12—48 de ore	1/2—2 ore
— tipul de reacție	umoral	umoral	celular	general și local
— principalele elemente care participă la reacție	anticorpii serici fixați pe celule	anticorpii serici precipitanți	mononucleare (limfocite)	reacție hemoragică și necroză prin lizosomi
— răspunsul organismelor agammaglobulinemice	negativ	negativ	slab dar prezent	(?)
— intervenția complementului	nu	necesară	nu	necesară
d) Mecanismul de producere a reacției	anticorpii „fixați" pe celule eliberează histamină care produce contracția mușchilor netezi	complexe precipitate de antigen-anticorp lezează endoteliul vascular și provoacă trombuși, hemoragie și necroză	infiltrate cu mononucleare sensibilizate; în final necroză	lezarea endoteliului vascular, depozite de fibrină, plachete și leucocite, care dau tromboză, hemoragie și necroză
— inhibiție prin	antihistaminice	anticoagulante	cortizon	anticoagulante
e) Transferul pasiv				
— prin serul imun	pozitiv	pozitiv	negativ	negativ
— prin celule imune	negativ	negativ	pozitiv	negativ
— natura factorului de transfer	anticorpi circulanți	anticorpi serici precipitanți	nucleotide limfocitare	—
— durata sensibilizării obținută prin transfer pasiv	1—3 săptămîni	1—3 săptămîni	mai multe luni	—

B. HIPERSENSIBILITATEA SPECIFICĂ IMEDIATĂ DE TIP ANAFILACTIC

Hipersensibilitatea anafilactică a fost descoperită în 1901 de către Portier şi Richet care, încercînd să imunizeze animalele cu extracte de celenterate (*Physalis*, *Actinia*), au constatat că animalele, în loc să devină mai rezistente, se dovedeau mai sensibile. Autorii au denumit acest fenomen *anafilaxie* („contrariul protecţiei").

Anafilaxia se defineşte ca starea de hipersensibilitate specifică a unui organism care, o dată venit în contact cu antigenul, după un timp de latenţă care variază între 8 şi 18 zile, prezintă o serie de accidente imediate ca urmare a unui nou contact cu substanţa sensibilizantă.

Fenomenul cel mai frapant care însoţeşte declanşarea proceselor de hipersensibilitate anafilactică este şocul (această stare de sensibilitate este dealtfel cunoscută şi sub numele de *şoc anafilactic*); astfel, un cîine sensibilizat cu cîteva săptămîni în urmă, la reinocularea antigenului poate prezenta o serie de fenomene de şoc, printre care domină fenomenele cardiovasculare însoţite de vomismente, diaree şi ataxie. Colapsul cardio-vascular observat nu este datorit unei deficienţe a miocardului, deoarece nici metoda electrocardiografică şi nici studiul direct al forţei muşchiului cardiac nu pot demonstra o diminuare a puterii fibrei cardiace. Colapsul constă mai ales dintr-o diminuare a reîntoarcerii sîngelui venos către auriculul drept.

Sensibilizarea de tip anafilactic poate fi indusă de o mare diversitate de antigene: veninuri de origini foarte variate (de notat că acestea sînt dotate cu proprietăţi histamino-eliberatoare), proteine de origine animală (proteine serice, ovalbumina etc.), proteine de origine vegetală (edestina, gliadina), proteine de origine bacteriană, diferite enzime şi o serie de antigene poliozidice (de natură neproteică).

Sensibilizarea anafilactică poate fi indusă fie prin administrarea directă a antigenului (*anafilaxie activă*), fie prin transferul anticorpilor circulanţi de la un animal sensibilizat la altul normal (*anafilaxie pasivă*). Declanşarea fenomenelor anafilactice se poate realiza fie prin administrarea antigenului pe cale intravenoasă, ceea ce produce fenomene generale de şoc anafilactic (*anafilaxie generală*), fie prin administrarea locală a antigenului, ceea ce duce la fenomene strict localizate (*anafilaxie locală*).

Aceste criterii permit o grupare didactică a fenomenelor de sensibilitate anafilactică, în vederea descrierii caracterelor lor.

1) ANAFILAXIA ACTIVĂ GENERALĂ

Procesul de sensibilizare anafilactică se realizează experimental cu destulă uşurinţă, prin inocularea la animalul de experienţă a unei proteine eterologe.

Dacă ulterior, după 15—20 de zile, animalul primeşte intravenos o nouă doză (chiar mult mai mică) din acelaşi antigen sau dintr-un altul

Scanned with OKEN Scanner

înrudit chimic şi imunologic, atunci se instalează foarte rapid (la cobai în numai 5 minute) fenomene de şoc mortal.

Cercetările întreprinse au demonstrat că şocul anafilactic duce la moarte prin blocarea muşchilor netezi : injecţia de antigen duce la declanşarea unor substanţe farmacologic active, mai ales histamină (Rocha e Silva, 1955), care acţionează pe muşchii netezi ai bronhiilor şi provoacă moartea animalului prin emfizem acut pulmonar. În afară de histamină, acţiunea antigenului provoacă şi eliberarea altor substanţe farmacologic active : serotonina, substanţa „slow reacting", acetil-colina, heparina etc. Proporţiile relative dintre aceste substanţe liberate diferă de la o specie la alta, ceea ce determină simptomele variate ale şocului anafilactic la diversele specii animale (Halpern, 1964).

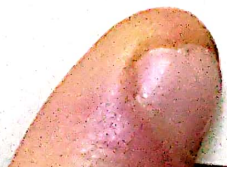
2) ANAFILAXIA ACTIVĂ LOCALĂ

Dacă la originea fenomenelor anafilactice stau procesele de eliberare a metaboliţilor de tip histaminic („substanţe H"), atunci este de aşteptat ca reacţii de tip anafilactic să poată fi obţinute nu numai după administrarea antigenului intravenos, ci şi după administrarea lui în orice organ. În acest sens, încă între 1910 şi 1913, Schultz şi Dale au demonstrat posibilitatea declanşării reacţiilor anafilactice *in vitro*, pe organe izolate. În asemenea experienţe, cel mai utilizat este intestinul, prelevat de la animale sensibilizate în prealabil; un fragment din acest intestin, dacă este suspendat în ser fiziologic (sau soluţie Locke) convenabil oxigenat, prezintă o contractură puternică cînd antigenul este introdus în soluţia fiziologică. Fenomenul este cunoscut sub numele de *reacţie Schultz-Dale*.

Anafilaxia locală se poate obţine şi la animalul viu, la nivelul pielii, prin injectarea intradermică a unei doze mici de antigen (0,05 — 0,1 mg), după o prealabilă inoculare intravenoasă de albastru de tripan sau albastru Evans. Ca urmare a inoculării antigenului, la locul de administrare are loc o rapidă eliberare de histamină care provoacă o bruscă dilatare a capilarelor pielii; vasodilataţia duce imediat la extravazarea serului şi a colorantului ce îl conţine, astfel că, la locul de inoculare, apare o pată albastră, care este deosebit de vizibilă pe faţa internă a pielii. Fenomenul este cunoscut sub numele de *anafilaxie cutanată activă*.

Declanşarea fenomenelor anafilactice este posibilă ori de cîte ori în sîngele circulant există anticorpi specifici faţă de antigenul declanşator. Pe de altă parte, s-a constatat că fenomenele de tip anafilactic pot fi transferate pasiv prin serurile care conţin anticorpi circulanţi, iar neutralizarea prealabilă a acestor anticorpi suprimă capacitatea de transfer pasiv al serului. Aceste fapte au condus la concluzia că fenomenele anafilactice sînt rezultatul unor reacţii antigen—anticorp.

Iniţial s-a considerat că anticorpii serici circulanţi sînt direct răspunzători de declanşarea reacţiei anafilactice. Studiile întreprinse de Dale şi de alţi autori — care au constatat că muşchiul unui organ izolat reacţionează puternic la antigen chiar după ce a fost spălat, eliminîndu-se orice rest de ser imun (şi deci de anticorpi circulanţi) — au dus la concluzia că *anafilaxia este rezultatul unui fenomen celular, datorit reacţiei anti-*



genului cu anticorpii fixaţi pe celulele ţesutului sensibilizat, urmată de o liberare de histamină (sau substanţă analogă,) care există în stare preformată în celulele ţesutului sensibilizat (Dale).

3) ANAFILAXIA PASIVĂ GENERALĂ

În general, transferul pasiv al anticorpilor circulanţi de la un animal sensibilizat la altul normal provoacă sensibilizarea anafilactică a acestuia din urmă. Dacă un organism normal primeşte intravenos o doză de anticorpi serici de la un animal sensibilizat în prealabil şi dacă, ulterior, animalul receptor primeşte, tot intravenos, o injecţie cu antigen specific, atunci animalul primitor prezintă imediat fenomene de şoc anafilactic. Studiul mai amplu al fenomenului a arătat însă că transferul pasiv al anafilaxiei nu este universal posibil. Astfel, spre exemplu, un cobai normal poate fi totdeauna sensibilizat pasiv cu anticorpi omologi (de cobai), dar numai uneori cu anticorpi eterologi, cum sînt cei de iepure şi de om; transferul pasiv la cobai al anafilaxiei nu este posibil cu anticorpi de cal, de capră sau de pasăre. Întrucît pentru sensibilizarea anafilactică este necesar ca anticorpul să se fixeze în prealabil pe celulele din ţesuturi, este de presupus că aceste celule nu au receptori care să permită fixarea anticorpilor de origini diferite; cu alte cuvinte, în cazul cobaiului, se poate admite că celulele fixatoare de anticorpi posedă receptori pentru anticorpii de cobai (omologi), de iepure şi de om, dar nu posedă receptori pentru anticorpii de cal, capră sau pasăre. Fixarea anticorpilor pe celule se face prin intermediul segmentului Fd (H''), de pe fragmentul papainic Fc, al moleculei respective de imunoglobulină (cap. 4).

Necesitatea fixării prealabile a anticorpilor pe anumite celule (cele histamino-eliberatoare) este susţinută şi de faptul că între momentul transferării anticorpilor şi acela al injecţiei antigenice declanşatoare trebuie să se lase un „timp de latenţă". După Kabat şi Benacerraf, în condiţii de lucru cantitativ determinate, în care variază atît doza de anticorpi transferată, cît şi timpul de latenţă dintre injecţia de anticorpi şi cea de antigen (declanşată), provocarea la cobai a unei anafilaxii 100% mortală, ca urmare a transferului pasiv de anticorpi de iepure, depinde de amîndoi parametrii variabili. Astfel, dacă administrarea unei doze foarte mari de anticorpi permite inducerea unei anafilaxii mortale chiar după un timp de latenţă de numai 30 de minute, transferul unei doze mici de anticorpi (30 μg N) nu permite obţinerea anafilaxiei mortale decît după un timp de latenţă de 48 de ore. Aceasta înseamnă că pentru sensibilizarea anafilactică este necesar să se asigure condiţiile de trecere a anticorpilor din circulaţie în ţesuturi, ceea ce se poate obţine repede prin administrarea unei doze mari de anticorpi sau, lent, cu prelungirea timpului de latenţă, prin administrarea de mici cantităţi de anticorpi. Dacă anticorpii nu au avut condiţiile necesare pentru a trece în ţesuturi, atunci administrarea antigenului, efectuată de asemenea pe cale intravenoasă, face ca reacţia dintre antigen şi anticorp să aibă loc în sînge şi nu la nivelul ţesuturilor, reacţia de tip anafilactic nemaifiind posibilă.

Scanned with OKEN Scanner

4) ANAFILAXIA PASIVĂ LOCALĂ

Există două metode uzuale de evidenţiere locală a fenomenelor de anafilaxie transferată pasiv : *a*) anafilaxia cutanată pasivă (Ovary şi colab., 1963) şi *b*) sensibilizarea pasivă a intestinului *in vitro* (Halpern şi colab., 1961).

a) **Anafilaxia cutanată pasivă** (A.C.P.), cunoscută şi sub numele de *testul Ovary*, constă în inocularea intradermică de 0,1 ml ser imun, urmată de administrarea ulterioară, pe cale intravenoasă, a antigenului împreună cu un colorant vital (albastru de tripan sau albastru Evans). În următoarele 5 minute de la injecţia de antigen are loc reacţia şi, dacă la capătul acestui interval animalul se sacrifică, se poate observa pe faţa internă (dermică) a pielii, la locul de inoculare, acumularea colorantului sub formă de pată albastră.

Pentru realizarea testului Ovary este de asemenea necesar să se asigure un „timp de latenţă" între injecţia locală de transfer a anticorpului şi injecţia parenterală de antigen. Timpul de latenţă în acest caz nu este desigur necesar pentru trecerea anticorpului din circulaţie în ţesuturi (deoarece anticorpii sînt inoculaţi direct în ţesut), ci pentru a permite o bună difuziune locală a lor şi „fixarea" pe celulele histamino-eliberatoare. În cazul testului Ovary, prelungirea timpului de latenţă nu este indicată, deoarece difuziunea anticorpului ajunge să fie prea mare.

Transferul anticorpilor după tehnica A.C.P. permite precizarea dozei minime de anticorpi care pot sensibiliza un organism normal. Astfel, dacă la cobai se transferă diferite cantităţi de anticorpi antiovalbumină de la iepure se constată că este suficientă doza de 0,003 μg N de anticorpi pentru a induce anafilaxia pasivă locală. Reacţiile de tip A.C.P., efectuate cu anticorpi de diferite origini şi în doze variate, au permis precizarea dozelor limită de anticorpi care pot asigura transferul pasiv la cobai, în funcţie de proveniența anticorpilor sensibilizaţi.

Testul Ovary inversat se practică prin inocularea intradermică a antigenului, urmată de inocularea intravenoasă a anticorpului, în amestec cu albastru Evans. În acest caz se constată că reacţia se poate dezvolta şi cu alţi anticorpi (de cal, bou, oaie, pasăre), care nu pot produce reacţii pozitive cînd se practică cu ajutorul lor testul Ovary direct. Pentru explicarea acestui fenomen se consideră că în cazul testului Ovary inversat antigenul inoculat intradermic se poate fixa pe celulele histamino-liberatoare locale, în timp ce în cazul testului Ovary direct anticorpii nu se pot fixa pe aceste celule. Această constatare a permis lui Halpern (1961) să cerceteze influenţa competiţiei dintre imunoglobulinele normale şi imunoglobulinele anticorpi în fixarea pe celulele locale, utilizînd metoda A.C.P., testul Ovary direct. Astfel, dacă se inoculează local, pe flancurile abdomenului unui şobolan, cantităţi variate de anticorpi amestecaţi sau nu cu γ-globuline normale (tabelul nr. 14) se observă, în cazurile amestecului de globuline normale şi anticorpi, că inocularea intravenoasă ulterioară (după 4 ore) a unei doze de antigen provoacă reacţii mai slabe acestora din urmă, care dau o aparenţă de diluare a anticorpilor inoculaţi. Această aparenţă de „diluare" este datorită competiţiei dintre cele două tipuri de globuline în ceea ce priveşte fixarea lor pe celulele locale histamino-eliberatoare; între cantitatea prag de anticorpi neamestecaţi şi

Scanned with OKEN Scanner

cea de anticorpi amestecați cu imunoglobuline normale care dau reacție Ovary pozitivă se poate stabili un raport invers, cîtul respectiv reprezentînd „raportul de competiție".

În cazul exemplificat în tabelul nr. 15 „raportul de competiție" R. C. $= \frac{0{,}006}{0{,}003} = 2$, ceea ce înseamnă că 1 μg N/0,1 ml γ-globuline nor-

Tabelul nr. 15

Rezultatele testării capacității anticorpilor anafilactizanți de a da reacția A. C. P. în prezența și în absența γ-globulinelor normale

Cantitatea de anticorpi antiovalbumină (în μg N/0,1 ml) și capacitatea lor de a induce A.C.P. (partea dreaptă a abdomenului)	Cantitatea de anticorpi antiovalbumină (în μg N/0,1 ml) și capacitatea lor de a induce A.C.P. în prezență de 1 μg N/0,1 ml γ-globuline normale (partea stîngă a abdomenului)
0,001 = −	0,001 = −
0,003 = +	0,003 = −
0,006 = ++	0,006 = ++

male poate inhiba o doză-prag de anticorpi (0,003 μg N/0,1 ml). Prin aceeași tehnică, dacă se crește corespunzător cantitatea de imunoglobuline normale adăugate la anticorpi se poate obține inhibarea și a 100 doze-prag de anticorpi. Activitatea competitiv-inhibitorie a imunoglobulinelor normale diferă cu specia animală, cea mai mare fiind aceea a imunoglobulinelor normale omologe; invers, imunoglobulinele normale de la speciile ai căror anticorpi nu se „fixează" pe celulele histamino-eliberatoare (și deci nu induc A.C.P.) sînt lipsite de orice activitate competitiv-inhibitorie față de anticorpii anafilactizanți.

Comoditatea în lucru oferită de metoda de inducție a A.C.P. a contribuit la abordarea unor studii cantitative de detaliu, privind relațiile dintre doza de antigen și cea de anticorpi, în cadrul proceselor anafilactice pasive (Liacopoulos și Halpern, 1952). În acest sens, s-a constatat că, pe măsura ce se crește cantitatea de anticorpi introdusă, se mărește și cantitatea-prag de antigen necesară pentru a provoca o reacție maximă. Dar, dacă doza de antigen crește continuu, reacția dezvoltată crește în paralel numai pînă la un punct (pragul maxim), pentru ca apoi să descrească și, în final, să ajungă chiar nulă. Rezultă din aceste date că există un anumit raport optim între cantitățile de anticorp și antigen pentru a obține eliberarea maximă a histaminei. În acest sens, s-a constatat că, dacă se amestecă *in vitro* 3 părți de antigen cu 2 părți anticorp și acest amestec se inoculează se poate obține și eliberarea de histamină; dacă însă proporțiile dintre antigen și anticorp sînt altele, reacția histamino-eliberatoare nu mai are loc.

b) **Sensibilizarea pasivă a intestinului de cobai** *in vitro* este o altă modalitate de evidențiere a hipersensibilității de tip anafilactic transferată local. După Halpern și colab. (1961 — 1964), metoda se poate realiza cu următoarea tehnică: fragmente de intestin de cobai sînt incubate la 38° C, în soluție Ringer-Locke care conține concentrații diferite de anticorpi. După variate timpuri de incubare (deci „perioade de latență" dife-

rite), fragmentele de intestin se suspendă într-o soluţie Tyrode oxigenată, la care se adaugă cantităţi fixe de antigen (2 μg N/ml); în cazul că se constată contracţia fragmentului de intestin, atunci reacţia se consideră pozitivă şi, în funcţie de gradul de contracţie, se poate nota intensitatea reacţiei.

Metoda sensibilizării pasive *in vitro* a intestinului de cobai a permis autorilor cuantificarea reacţiilor de anafilaxie pasivă. Concentraţia de anticorpi prezenţi într-un produs anumit poate fi determinată cu ajutorul acestei metode prin comparare cu un etalon la care se cunoaşte că o anumită cantitate de anticorpi, după un interval stabilit de timp de contact cu fragmentul de intestin, provoacă o reacţie de intensitate cunoscută.

5) ANTICORPII ANAFILACTIZANŢI

Proprietăţile lor fizico-chimice au fost investigate de către mai mulţi autori (Fahey, 1962). Ovary şi colab. (1963), Nussenzweig şi Benacerraf (1964) şi alţii au arătat că, la cobai, anticorpii 7 S cu specificităţi imunologice similare pot fi separaţi electroforetic în 2 clase — γ_1 (Ig A) şi γ_2 (Ig G) — care au activităţi biologice diferite datorită proprietăţilor conferite de fragmentul lor Fc şi de lanţurile H. Dintre aceştia, anticorpii γ_1 migrează electroforetic rapid şi mediază reacţiile de tip anafilactic, iar anticorpii γ_2 migrează electroforetic lent, sînt fixatori de complement şi mediază desfăşurarea acelor fenomene care depind de componentele complementului: liza celulară şi reacţia Arthus.

Anticorpii de tip γ_1, care au capacitatea de a transfera pasiv sensibilitatea anafilactică, nu au nevoie de prezenţa complementului (C′) pentru realizarea reacţiilor de A.C.P. Astfel, fragmentele de intestin utilizate pentru sensibilizarea pasivă *in vitro*, chiar dacă în prealabil sînt îndelung perfuzate, pentru a elimina în totalitate sîngele şi fracţiunea C′, continuă să prezinte nealterată capacitatea de a fi sensibilizate cu anticorpi γ_1 (Ig A) şi de a reacţiona ulterior la adăugarea antigenului specific. De asemenea, s-a constatat, la şoarecii la care fracţiunea C′ a fost redusă la numai 10% din conţinutul normal, că reacţiile de tip A.C.P. pot fi produse cu aceeaşi intensitate cu care au loc şi la şoarecele normal; de altfel, şocul anafilactic şi reacţiile locale au putut fi demonstrate chiar la şoareci total lipsiţi (prin mutaţie genică) de factorul C′.

Supuşi tratamentului cu *papaină*, anticorpii A.P.C. liberează trei fragmente. Fragmentele I şi II au o greutate moleculară în jur de 50 000 şi posedă un singur loc („situs") de combinare cu antigenul; aceste fragmente sînt deci univalente. Fragmentul III are o greutate moleculară de 80 000 şi este lipsit de orice activitate imunologică, posedînd însă caracterele antigenice ale γ-globulinelor.

Fracţiunile I şi III fiind monovalente nu dau precipitate ale complexului antigen-anticorp atunci cînd sînt puse în prezenţa antigenului specific, însă realizează neutralizarea acestuia, făcîndu-l incapabil de a mai declanşa reacţii de A.C.P. Capacitatea de a se fixa pe celule a fracţiunilor I şi II este practic nulă: administrate intradermic unui animal, nu se poate obţine reacţia locală de A.C.P. cînd se inoculează şi antigen

Scanned with OKEN Scanner

pe cale intravenoasă. Totuşi, dacă aceste fracţiuni sînt amestecate cu anticorpi integrali şi apoi inoculate animalului provoacă o reducere a intensităţii testului Ovary indus de doza respectivă de anticorpi inoculaţi, deoarece fracţiunile I şi II sînt capabile să competiţioneze cu anticorpii integrali pentru neutralizarea antigenului.

Fragmentul III globulinic, care este lipsit de specificitate imunologică, nu dă reacţii de A.C.P., însă are capacitatea de a se fixa pe celule. Administrat în amestec cu anticorpi integrali provoacă fenomenul de „diluare" a acestora din urmă, datorită faptului că intră în competiţie pentru fixarea pe celule. Rezultă din aceste date că potenţialul de fixare pe celulele histamino-liberatoare a anticorpilor anafilactogeni aparţine fragmentului lor γ-globulinic, nespecific imunologic.

Supuşi tratamentului cu *pepsină*, anticorpii A.P.C. sînt scindaţi în două fragmente:

a) unul dintre acestea corespunde ansamblului fragmentelor I şi II obţinute în urma tratamentului cu papaină; acest fragment pepsinic, fiind bivalent din punctul de vedere al reactivităţii specifice serologice, în contact cu antigenul poate da precipitate; nu poate însă transfera A.P.C., deoarece nu se pot fixa pe celule;

b) al doilea fragment pepsinic corespunde fragmentului III — papainic: are atributele antigenice şi reactive ale γ-globulinelor, posedînd capacitatea de a se fixa pe celulele histamino-eliberatoare şi de a competiţiona cu anticorpii integrali, fără să poată însă reacţiona specific cu antigenul.

Fixarea complexului antigen—anticorp pe celulele histamino-eliberatoare se face, cum rezultă din datele prezentate, prin intermediul segmentului H din fragmentul Fc papainic al moleculei de anticorp. Efectul acestei fixări este punerea în libertate a substanţelor de tip H de către celulele histamino-formatoare, substanţele H declanşînd seria diferitelor simptome ce caracterizează fenomenele de anafilaxie. Substanţele de tip H (histamină, heparină, serotonină, bradikinină, substanţa lent reactivă etc.) acţionează pe musculatura lentă, pe care o contractă, cu excepţia vaselor mici, ai căror pereţi îi relaxează şi îi permeabilizează. Efectul rezultat este o reţinere masivă a masei sanguine la periferie şi, astfel, o diminuare importantă a întoarcerii sîngelui venos în auriculul drept, ceea ce declanşează un colaps cardiac (Păunescu, 1972). Procesul de eliberare a histaminei pare să aibă la bază un mecanism enzimatic termolabil, deoarece păstrarea fragmentului intestinal sensibilizat la o temperatură de 43°C nu afectează viabilitatea acestuia, dar îl face incapabil de a mai răspunde la stimulul antigenic. În aceste condiţii nu se mai poate pune în evidenţă histamină eliberată în urma adaosului de antigen, ceea ce îndreptăţeşte concepţia că — prin incubare la 43°C — are loc inactivarea sistemelor enzimatice celulare care asigură eliberarea histaminei.

Reacţiile de hipersensibilitate anafilactică pot fi dealtfel prevenite sau oprite prin administrarea de antihistaminice, care anihilează efectele fiziopatologice ale substanţelor de tip histamină eliberate în cursul şocului anafilactic.

Pentru studiul mecanismelor celulare ale hipersensibilităţii anafilactice, Lichtenstein şi Osler (1964) au utilizat un model experimental cu leucocite sanguine, provenite de la indivizi cu alergie la polen şi puse în contact cu alergenul specific, în absenţa complementului seric. În aceste

Scanned with OKEN Scanner

condiţii, leucocitele sensibilizate eliberează histamină. Ulterior, Levy şi Osler (1966) constată că inocularea de leucocite de la indivizi nealergici, împreună cu ser de la alergici şi antigen, are un rezultat histamino-eliberator similar. Aceste observaţii arată că pentru eliberarea de histamină prin mecanisme imunitar-anafilactice este nevoie de doi factori: unul umoral (seric), altul celular (leucocite). Factorul umoral a fost recent identificat cu imunoglobulina E (Ishizaka, 1970). Serul imun anti-Ig E poate substitui antigenul în asemenea reacţii anafilactice *in vitro*, producînd eliberarea histaminei (Lichtenstein şi colab., 1970). Leucocitele de la persoane nealergice sensibilizate cu IgE de asemenea eliberează histamină dacă sînt puse în contact cu serul imun anti-IgE (Ishizaka şi colab., 1970).

Celula leucocitară responsabilă de eliberarea histaminei s-a dovedit a fi bazofilul, aşa cum rezultă dintr-o serie de date: *a*) aproape în totalitate histamina din leucocitele sîngelui periferic uman se află în bazofile (Sampson şi Archer, 1967; Pruzansky şi Patterson, 1970); *b*) în cursul inoculării leucocitelor de la indivizi alergici cu antigenul corespunzător, în paralel cu eliberarea de histamină, are loc o treptată şi accentuată distrugere a bazofilelor, prin degranulare (Hastie, 1971); *c*) studiile cu IgE marcată radioactiv (Ishizaka şi colab., 1970) sau cu feritină (Sullivan şi colab., 1971) au arătat că IgE se fixează selectiv pe bazofile. Fixarea moleculei IgE pe bazofil se face prin intermediul fragmentului Fc (cap. 4).

C. HIPERSENSIBILITATEA SPECIFICĂ IMEDIATĂ DE TIP ARTHUS

În 1903, Arthus şi Breton au descris, la iepure, un fenomen de hipersensibilitate locală, care constă dintr-un răspuns inflamator local, obţinut în primele 2—3 ore după inocularea intradermică a antigenului la animalul în prealabil sensibilizat cu acelaşi antigen. Reacţia inflamatorie locală observată în fenomenele de tip Arthus se caracterizează prin edem, trombusuri vasculare, infiltraţie polinucleară şi, în final, necroză.

Caracterul imunologic al hipersensibilităţii imediate de tip Arthus este sprijinit, în primul rînd, de faptul că, pentru inducerea fenomenului, este indispensabilă o injecţie preparativă de antigen, urmată — după o perioadă de latenţă — de o nouă injecţie, locală, cu acelaşi antigen, cu unul înrudit sau cu haptena specifică, care declanşează reacţia. Perioada de latenţă dintre injecţia preparativă şi cea declanşatoare este de minimum 5—8 zile şi ea corespunde timpului necesar pentru apariţia anticorpilor circulanţi precipitanţi: în momentul în care aceşti anticorpi pot fi puşi în evidenţă în ser, atunci şi reacţia locală poate fi declanşată; în acest moment şi starea de hipersensibilitatea imediată poate fi transferată în mod pasiv, la un animal normal, prin intermediul serului imun.

Ca şi în cazul hipersensibilităţii de tip anafilactic, în sensibilitatea de tip Arthus transferul pasiv poate fi realizat:

a) fie prin administrarea intravenoasă a anticorpilor de la donator, în care caz injecţia declanşatoare cu antigen se va practica intradermic (*fenomen Arthus direct*);

Scanned with OKEN Scanner

b) fie prin administrarea locală, intradermică, a anticorpilor şi inocularea intravenoasă a antigenului (*fenomen Arthus inversat*).

Între hipersensibilitatea anafilactică şi cea de tip Arthus există o serie de asemănări, dar şi mai multe deosebiri esenţiale. Spre exemplu, în timp ce transferul anafilaxiei cutanate pasive se poate realiza cu cantităţi foarte mici de anticorpi (0,003 μg/0,1 ml), transferul sensibilităţii de tip Arthus (fenomenul Arthus inversat) necesită doze mult mai mari de anticorpi (5—10 μg/0,1 ml). Pe de altă parte, în timp ce în A.C.P. pentru a obţine o reacţie maximă este necesară respectarea unui „timp de latenţă" între inocularea anticorpilor şi cea a antigenului, în fenomenul Arthus reacţia maximă se obţine fără păstrarea vreunui timp de latenţă, atunci cînd anticorpul şi antigenul sînt inoculaţi unul după altul.

Studiile histologice şi imunologice au pus în evidenţă importante deosebiri între hipersensibilitatea anafilactică şi cea de tip Arthus, clarificînd totodată mecanismul fiziopatologic de producere al reacţiei Arthus. Astfel, cu ajutorul metodei cu imunofluorescenţă s-a observat că, imediat după inocularea declanşatoare în ţesuturi, la locul de administrare, are loc formarea de complexe antigen-anticorp precipitabile, care se depun în pereţii vaselor mici ale tegumentului. Acest lucru declanşează rapid un edem al pereţilor, care interesează în primul rînd celulele endoteliului. Procesul, iniţiat foarte precoce (în primul minut de la inocularea declanşată), se amplifică ulterior şi duce la acumularea de plachete sanguine în vasele cu endoteliul edematiat. Acest fenomen declanşează procesul normal de coagulare sanguină intravasculară, deoarece plachetele se distrug şi eliberează tromboplastină, care transformă fibrinogenul în fibrină. Depunerea acesteia din urmă, sub formă de flocoane insolubile, pe pereţii vaselor, şi formarea trombusurilor laterali înseamnă amplificarea procesului deoarece imediat vor fi oprite încă mai multe plachete sanguine şi, în final, cantitatea de fibrină va creşte încă mai mult.

Accentuarea dimensiunilor trombusurilor intravasculare se însoţeşte de oprirea din circulaţie a polinuclearelor care, prin pereţii vasculari alteraţi, migrează în ţesutul înconjurător. Se ajunge astfel la o infiltraţie leucocitară, predominant polinucleară, din ce în ce mai intensă a zonei tisulare interesată în reacţie, care, macroscopic, se traduce iniţial prin edem.

Ulterior, cum leziunile arteriolare şi ale venulelor se accentuează continuu, se ajunge la o tromboză locală, care provoacă fenomenele *hemoragice* caracteristice ale reacţiei. Şi cînd acestea ajung la o intensificare atît de mare încît produc oprirea circulaţiei, se instalează procesele de necroză locală.

După cum se observă, fenomenele de tip Arthus încep printr-un proces imunologic specific, declanşarea leziunii vaselor făcîndu-se prin intermediul complexelor antigen-anticorp precipitate; ulterior, însă, fenomenul capătă un substrat nespecific imunologic.

Desfăşurarea în timp a fenomenului Arhus are loc rapid. După cum s-a menţionat, lezarea iniţială a endoteliului are loc în primul minut de la inocularea declanşatoare, iar edemul apare în prima jumătate de oră; fenomenele hemoragice devin macroscopic evidente în următoarele 1—2 ore, continuînd să se intensifice încă alte 6—10 ore; infiltrarea leucocitară cu polinucleare începe în primele ore şi este maximă la 12—24 de ore. În unele reacţii de tip Arthus foarte intense, infiltratul poate creşte chiar pînă la 48 de ore, cînd — alături de polinucleare — se pot constata şi

mononucleare, al căror procentaj este însă mic (spre deosebire de reacţiile celulare ale hipersensibilităţii de tip întîrziat).

Studiile lui Benacerraf, Kabat şi ale altor autori au evidenţiat că, în contrast cu fenomenele anafilactice, unde anticorpii sînt fixaţi pe celule, în hipersensibilitatea de tip Arthus anticorpii sînt circulanţi. În acest sens s-a remarcat că, dacă după inocularea intravenoasă a anticorpilor se face o singură inoculare intradermică a antigenului declanşant, atunci se obţine o reacţie Arthus de mare intensitate; dacă însă antigenul este inoculat simultan în mai multe locuri, atunci reacţiile obţinute sînt cu atît mai slabe cu cît numărul de inoculări cu antigen este mai mare. Rezultă astfel că în fenomenele de tip Arthus anticorpii sînt circulanţi şi, dacă solicitarea lor se face concomitent în mai multe locuri, atunci se realizează o concentraţie mai redusă în punctele de inoculare a antigenului.

Faptul că pentru realizarea reacţiilor de tip Arthus nu este necesară o fixare prealabilă pe celule a anticorpilor explică atît lipsa de utilitate a respectării unui „timp de latenţă" între inocularea de transfer pasiv a anticorpilor şi cea declanşantă a antigenului, cît şi faptul că—spre deosebire de A.C.P. — este posibil să se obţină transferul sensibilităţii de tip Arthus cu anticorpi proveniţi de la orice fel de animal. Însă, în timp ce fenomenele anafilactice pot fi transferate pasiv prin orice fel de anticorpi (precipitanţi sau neprecipitanţi), cu singura condiţie ca aceştia să se poată fixa pe celulele histamino-eliberatoare, reacţiile de tip Arthus nu pot fi obţinute decît cu anticorpi precipitanţi, care în contact cu antigenul să devină insolubili şi să declanşeze oprirea circulaţiei sanguine în vasele mici, subcutane.

Există şi alte deosebiri între cele două tipuri de hipersensibilitate specifică imediată: anafilaxia şi reacţiile Arthus (tabelul nr. 16).

Tabelul nr. 16

Caracteristicile celor două tipuri de hipersensibilitate imediată pasivă

Caracterul	Tipul anafilactic (A.C.P.)	Tipul Arthus inversat
Doza-prag de anticorpi necesară transferului	0,003 μg N	10 μg N
Tipul de anticorpi	precipitanţi sau neprecipitanţi (fixatori pe celule)	precipitanţi (circulanţi)
Perioada de latenţă	necesară	nu
Reuşita transferului în funcţie de originea anticorpilor:		
cobai, iepure, om,	da	da
cal, bou, pasăre	nu	da
Substanţe inhibitorii	antihistaminice	anticoagulante
Mecanismul fiziopatologic de producere	anticorpi „fixaţi" pe celule care reacţionează cu antigenul şi provoacă eliberarea de substanţe H	anticorpi liberi în circulaţie care reacţionează cu antigenul şi provoacă coagularea
Necesitatea prezenţei complementului (C')	nu	da

Un aspect particular al fenomenelor de tip Arthus îl constituie necesitatea prezenţei complementului pentru reuşita reacţiilor. Astfel, dacă un animal este inoculat masiv cu complexe antigen-anticorp, ceea ce duce la adsorbţia fracţiunii C′ a complementului, atunci acest animal nu mai poate reacţiona la fenomene de tip Arthus; capacitatea sa de reacţie reapare însă odată cu revenirea la normal a concentraţiei în C′.

Prin intermediul reacţiilor de imunofluorescenţă s-a demonstrat că, la locul reacţiilor de tip Arthus, fracţiunea C′ a complementului se acumulează pe complexele antigen-anticorp care infiltrează pereţii vasculari şi care declanşează lezarea acestora. Fixarea componentei C′ pe complexele precipitante antigen-anticorp este indispensabilă şi pentru realizarea calităţilor chimiotactice faţă de polinucleare a acestor complexe. În absenţa complementului, complexele antigen-anticorp nu numai că pierd capacitatea de a leza pereţii vaselor sanguine, dar nici nu pot exercita efectul chemotactic pentru polinucleare.

Spre deosebire de fenomenele de anafilaxie, în care antihistaminicele au rol preventiv şi de protecţie, reacţiile de tip Arthus pot fi inhibate fie prin administrarea de anticoagulante (heparină), fie prin eliminarea polinuclearelor din circulaţie (iradiere cu raze X sau administrarea de N-iperită).

D. HIPERSENSIBILITATEA SPECIFICĂ DE TIP ÎNTÎRZIAT

(Hipersensibilitate celulară. Hipersensibilitate de tip tuberculinic. Răspuns imun mediat prin celule)

Reacţiile specifice imunitare care se declanşează mai lent, atingînd maximul de intensitate în 48—72 de ore, au fost denumite iniţial „alergie întîrziată" sau „hipersensibilitate de tip întîrziat (lentă)". Ele nu au însă drept caracteristică fundamentală lipsa de promptitudine în declanşarea răspunsului specific, ci participarea nemijlocită a componentei celulare şi, în contrast, lipsa de participare a serului imun sanguin (anticorpi circulanţi). Pentru acest motiv, în prezent se utilizează tot mai des denumirea de „reacţie de sensibilitate mediată celular". Procesele de hipersensibilitate întîrziată pot fi declanşate în ţesuturi nevascularizate, precum şi în culturi de celule provenite de la animale sensibilizate, adică în absenţa anticorpilor circulanţi; iar starea de hipersensibilitate de tip întîrziat nu poate fi transferată pasiv prin intermediul serului sanguin, ci numai cu ajutorul unor celule provenite de la animalul sensibilizat în prealabil.

Pentru aceste motive, termenii de „alergie întîrziată" şi „hipersensibilitate de tip întîrziat" sînt astăzi tot mai des substituiţi prin cel de „hipersensibilitate celulară" sau „mediată prin celule".

În timp ce prima descriere a aspectului clinic al reacţiilor de tip întîrziat a fost dată în 1798 de către Edward Jenner, prima expunere ştiinţifică a fenomenului de hipersensibilitate celulară aparţine lui Robert Koch (1891), care semnalează faptul că, în timp ce tuberculina injectată la cobai normali, chiar în cantităţi mari, nu produce reacţii importante, inocularea unor foarte mici doze de tuberculină la cobaiul infectat cu bacilul tuberculozei provoacă reacţii caracteristice (hipersensibilitate „de tip tuberculinic").

Scanned with OKEN Scanner

Răspunsul organismului infectat la inocularea de tuberculină se manifestă prin *1) reacţii generale*: o creştere a temperaturii corpului, o pierdere trecătoare a capacităţii de a reacţiona la tuberculină şi reducerea numerică a limfocitelor mici din sîngele circulant; şi *2) reacţii locale*: o acumulare iniţială de polinucleare neutrofile, urmată la scurt interval (2—6 ore de la inoculare) de un aflux important de mononucleare, cu predominanţă limfocitară, care prezintă o mare capacitate de transformare (histiocitară, macrofagică, epitelioidă) şi de proliferare. Acumularea de mononucleare la locul de inoculare a antigenului declanşator al reacţiei de hipersensibilitate celulară duce, în circa 24 de ore, la o induraţie tegumentară evidentă care devine maximă în 48—72 de ore. Dimensiunile acestei induraţii sînt în relaţie directă cu gradul de sensibilitate al organismului şi cu doza de antigen administrată. Înroşirea zonei de reacţie, care se observă concomitent, este rezultatul unui proces accentuat de vasodilatare, ca răspuns la substanţele vasodilatatoare eliberate de unele celule sensibilizate acumulate la locul inoculării. Reacţiile severe de hipersensibilitate celulară se însoţesc deseori de apariţia unor zone centrale de necroză, rezultată prin obstruarea vaselor sanguine de către celulele sensibilizate, mobilizate în mare număr la locul de reacţie şi, consecutiv, prin încetinirea pînă la oprire a circulaţiei sanguine la nivelul zonei reactive.

Din punct de vedere histologic, caracterul principal al reacţiilor de hipersensibilitate celulară îl constituie mobilizarea şi acumularea locală de elemente mononucleare; edemul, hemoragia şi mai ales necroza sînt elemente secundare, care nu reliefează specificitatea reacţiei, ci numai intensitatea acesteia.

Deci, spre deosebire de reacţiile de hipersensibilitate de tip „imediat" (anafilaxie), în cazul hipersensibilităţii mediată celular (de tip „întîrziat") intervalul dintre contactul cu antigenul şi declanşarea simptomelor caracteristice este relativ lung (4—8 ore), iar reacţia prezintă un maxim la circa 48 de ore de la administrarea antigenului. De asemenea, în cazul hipersensibilităţii celulare nu se pot pune în evidenţă anticorpi circulanţi care să participe la reacţie sau care să permită realizarea unui transfer pasiv al stării de hipersensibilitate; declanşarea alergiei de tip întîrziat nu se însoţeşte de fenomene de şoc tisular, aşa cum se întîmplă în cazul proceselor imunitare de tip imediat, la care cuplarea anticorpilor circulanţi cu antigenul provoacă eliberarea fie de histamină şi alte substanţe H (anafilaxia), fie de heparină (Arthus).

Neparticiparea anticorpilor circulanţi în procesele de hipersensibilitate întîrziată nu denotă însă lipsa de specificitate imunologică a fenomenului; în acest sens principalele argumente care demonstrează caracterul imunologic al proceselor de hipersensibilitate celulară au fost sintetizate de către Rich (1944):

1) Pentru instalarea stării de hipersensibilitate întîrziată este necesar, în prealabil, contactul cu antigenul.

2) Declanşarea reacţiei de hipersensibilitate celulară nu are loc decît în urma reexpunerii organismului la antigenul sensibilizant.

3) Perioada de incubaţie necesară pentru producerea sensibilizării este de 5—7 zile, fiind deci de acelaşi ordin de mărime cu cea necesară altor răspunsuri imunologice.

Scanned with OKEN Scanner

4) În cadrul proceselor de hipersensibilitate celulară au loc şi reacţii de tip anamnestic (după reducerea stării de sensibilitate, o nouă administrare a antigenului specific restabileşte şi sensibilitatea într-un interval de timp mai scurt decît cel necesar pentru sensibilizarea iniţială).

5) Şi în cazul hipersensibilităţii celulare este posibil să se practice desensibilizarea.

1) INDUCŢIA STĂRII DE HIPERSENSIBILITATE DE TIP ÎNTÎRZIAT

În privinţa mecanismelor de producere a hipersensibilităţii de tip întîrziat există o importantă deosebire faţă de hipersensibilitatea imediată în legătură cu modul de administrare al antigenului sensibilizant. Astfel, tuberculina (ovalbumina sau orice altă proteină antigenică), dacă este administrată singură sau împreună cu adjuvantul Freund simplu, produce numai apariţia de anticorpi circulanţi şi o sensibilizare de tip Arthus („imediată"). Dacă însă, în vederea administrării, proteina-antigen este în prealabil înrobată în adjuvantul Freund complet, în afară de apariţia anticorpilor circulanţi şi a stării de sensibilizare cu răspuns imediat, se instalează şi o hipersensibilitate specifică de tip întîrziat.

Rezultă în mod evident că, pentru realizarea stării de hipersensibilitatea întîrziată este nevoie ca antigenul să fie administrat împreună cu o *substanţă „adjuvantă"*, care, fără să fie prin ea însăşi antigenică, conferă proteinei-antigen calităţi speciale, indispensabile pentru inducerea sensibilităţii de tip întîrziat.

Încă din 1929, Dienes a semnalat că reacţii de hipersensibilitate de tip „întîrziat" se pot obţine cu orice fel de proteină antigenică (albuş de ou, ser de cal etc.), dacă se foloseşte o metodă adecvată de sensibilizare. În forma iniţială, metoda preconizată de Dienes constă în injectarea antigenului în leziunea unui animal tuberculos ; în acest caz, detritusurile bacilare prezente în focarul lezional constituiau substanţe „adjuvante" adecvate pentru sensibilizarea celulară la antigenul inoculat. Ulterior, Freund şi McDermott (1942) au pus la punct un amestec adjuvant — format din ulei de vaselină, lanolină şi bacili ai tuberculozei omorîţi prin căldură (sau ceară D extrasă din aceştia) — care permitea obţinerea unei sensibilizări de tip celular faţă de orice antigen înrobat în acest amestec şi administrat sub această formă. Acest „adjuvant Freund" stimulează nu numai instalarea hipersensibilităţii celulare, dar şi formarea unui titru înalt de anticorpi circulanţi. În conţinutul adjuvantului complet, corpii micobacterieni uscaţi pot fi substituiţi prin cerurile extrase din peretele bacilar şi, în special, prin „ceara D". Această substituire menţine integral potenţialul adjuvantului de a induce starea de hipersensibilitate intîrziată cu condiţia ca „ceara D" să provină de la o tulpină umană de *Mycobacterium tuberculosis* (cea extrasă din o serie de tulpini bovine, aviare şi saprofite au un foarte slab potenţial inductiv sau chiar sînt lipsite de asemenea calităţi). Studiile întreprinse au arătat că deosebirilor în comportarea biologică a „cerurilor D" de diferite origini le corespund deosebiri de compoziţie chimică : toate cerurile D conţin acizi micolici (50%) legaţi cu un polizaharid (50%) ; în timp ce polizaharidul extras din „ceara D" a tulpinilor umane conţine azot, polizaharidul din celelalte

Scanned with OKEN Scanner

ceruri D este neazotat. O analiză chimică mai completă a acestor polizaharide a arătat că azotul polizaharidului cerii D din tulpinile umane reprezintă un peptid, format din trei molecule de alanină (D şi L), două molecule de acid D-glutamic şi două molecule de acid diaminopimelic (tabelul nr. 17). Aceste date sugerează că activitatea inductoare a substanţelor adjuvante este legată de prezenţa în molecula respectivă a peptidului de alanină (Al), acid glutamic (Glut) şi acid diaminopimelic (DAP).

Pentru a-şi exercita activitatea „adjuvantă", acest heptapeptid trebuie să rămînă integrat în complexul „acid micolic-polizaharid-peptid", deoarece fracţiunea „polizaharid-peptid" singură nu are acţiune „adjuvantă", inductoare a stării de hipersensibilitate. Prezenţa acestui peptid într-o combinaţie similară, dar nu identică, este bănuită şi în peretele celular al bacilului tuberculozei de tip bovin, ca şi la tulpinile BCG, *smegamtis* şi *phlei*, deoarece celule integrale din aceste macroorganisme pot constitui un „adjuvant", în ciuda faptului că cerurile D extrase din asemenea celule nu conţin peptidul inductor şi nici nu au potenţialul de a produce hipersensibilitatea de tip celular (tabelul nr. 17).

Tabelul nr. 17

Compoziţia chimică a cerurilor D de diferite origini (după Lederer, 1969)

Componenta	Micobacterii umane (%)	Micobacterii bovine, aviare, saprofite (%)
Acizi micolici ($C_{88}H_{176}O_4$)	50	50
Polizaharid (arabinoză, galactoză, manoză)	48	50
Peptid (alalină, acid glutamic, acid diaminopimelic)	2	—

Raffel (1948), sensibilizînd mai multe loturi de cobai cu ovalbumină inoculată în amestec fie cu ceară de bacili tuberculoşi umani, fie cu fosfatid, fie cu ulei de parafină, constată că toate animalele — la reinocularea intradermică a ovalbuminei, după 17 zile de la sensibilizare — prezintă fenomene de tip Arthus, ceea ce demonstrează formarea de anticorpi circulanţi, indiferent de forma de administrare a antigenului. Dacă însă ovalbumina este reinoculată pe cale corneană (ţesut lipsit de vascularizaţie), reacţionează numai animalele din grupul celor sensibilizate cu amestecul „antigen + ceară bacilară", iar reacţia este de tip întîrziat, celulară : edem, infiltrat cu mononucleare, tumefierea şi necroza fibrilelor corneene, iar în unele cazuri necroza celulelor epiteliale. Aceste experienţe dovedesc calităţile deosebite de substanţă „adjuvantă" pentru inducerea hipersensibilităţii de tip întîrziat, pe care le prezintă cerurile extrase din micobacteriile umane.

Starea de hipersensibilitate celulară se poate obţine nu numai cu ajutorul lipopolizaharidelor de origine bacilară (Pmko, ceară D), ci şi în alte condiţii, în prezenţa unor detritusuri tisulare alterate. Acesta este cazul aşa-numitei *sensibilizări de contact*, la care iritaţiile externe (de obicei tegumentare) cauzate de unii agenţi chimici macromoleculari (coloranţi, lacuri, cauciuc, substanţe medicamentoase etc.) duc la o sensi-

Scanned with OKEN Scanner

bilizare faţă de agentul iritant. În astfel de procese, modificarea structurală a proteinelor tegumentare, ca rezultat al acţiunii agentului iritant, este incriminată drept cauză declanşatoare a fenomenului : proteina tisulară degradată pe de o parte se combină cu agentul iritant formînd un antigen complet, iar pe de altă parte manifestă o acţiune „adjuvantă" promovatoare a sensibilizării celulare. Procese similare se desfăşoară şi în cazul arsurilor tegumentare, urmate de aplicarea — la locul leziunii — de soluţii antigenice. În acest sens, Charpy (1956), Raffel (1953) şi alţii au semnalat că, după alterarea integrităţii tegumentare — prin tratare cu alcali sau acizi, prin arsuri etc., sau chiar prin simpla înţepare cu acul — şi aplicarea de soluţii antigenice, se poate obţine o stare de alergie de tip întîrziat faţă de antigenul aplicat. De asemenea, injecţii repetate dintr-un amestec, realizat *in vitro*, de antigene cu diferite extracte proteice de origine cutanată (sau chiar din alte ţesuturi) induc, în 10 — 16 zile, o stare de hipersensibilitate celulară, de tip întîrziat.

2) TIPURI DE HIPERSENSIBILITATE CELULARĂ

Cel mai cunoscut tip de hipersensibilitate întîrziată este cel care însoţeşte infecţia tuberculoasă, fapt care a determinat ca pentru hipersensibilitatea celulară (de tip întîrziat) să se folosească şi denumirea de *hipersensibilitate* (*alergie*) *de tip tuberculinic.*

Tuberculoza nu este însă singura infecţie care se însoţeşte de o alergie celulară ; alte infecţii bacteriene şi virale, sifilisul, o serie de parazitoze şi infecţii fungice dezvoltă de asemenea o stare de hipersensibilitate întîrziată cu caractere similare celei de tip tuberculinic. Toate acestea sînt grupate sub denumirea generală de *alergie de infecţie* ; mecanismul lor de producere a fost studiat experimental, folosind ca antigen proteine purificate sau conjugate cu haptene.

Hipersensibilitatea celulară se instalează şi într-o serie de alte afecţiuni, neinfecţioase, ca dermatitele de contact şi sensibilizările la unele medicamente sau anumite substanţe chimice. Aceste fenomene sînt reunite sub numele de *alergie de contact.*

În „boala serului", o serie de procese de hipersensibilitate sînt de asemenea de tip celular, cu manifestare întîrziată ; acestea pot fi înglobate într-un al treilea tip de hipersensibilitate celulară, sub numele de *alergie serică.*

În cursul proceselor declanşate de transplantele de ţesuturi şi organe (homografe) au loc fenomene de sensibilizare de tip întîrziat, care se concretizează, în final, prin fenomenul de *eliminare a grefei.*

Procese de hipersensibilitate de tip întîrziat se observă şi în *bolile cu autoalergie.*

a) Alergia tuberculinică

Inocularea de bacili tuberculoşi vii în laba stîngă a unui cobai normal duce la apariţia unui fenomen inflamator care se dezvoltă lent ; după două săptămîni, la locul de inoculare se formează un nodul însoţit de adenopatie regională ; ulterior, inflamaţia specifică se măreşte şi duce la necroză

tisulară şi la ulceraţie în aproximativ 3 — 4 săptămîni. Dacă în acest moment se inoculează bacili tuberculoşi vii în laba dreaptă a aceluiaşi cobai, reacţia inflamatorie care apare se dezvoltă mult mai rapid : în 12 — 24 de ore de la inoculare nodulul este evident, iar necroza locală, însoţită de ulceraţie, poate apărea în 24 — 48 de ore. Acesta este *fenomenul* descris de Koch, în 1881, şi care îi poartă numele.

Prima injecţie este cea hipersensibilizantă ; a doua inoculare este cea declanşantă şi ea poate fi realizată nu numai cu bacili — vii sau morţi — ci şi cu tuberculoproteina : *a*) dacă aceasta este inoculată intradermic în cantităţi foarte mici (1 — 100 *gamma*) se dezvoltă local o reacţie inflamatorie, în care domină infiltraţia celulară cu monocite ; *b*) dacă tuberculina este inoculată subcutan, se produce atît o reacţie inflamatorie locală, cît şi o reacţie focală, la distanţă, în jurul leziunilor tuberculoase existente ; *c*) dacă administrarea tuberculinei se face cornean, atunci are loc o reacţie strict-locală, de asemenea de tip celular, cu debut mai tardiv şi prezentînd un maxim la 24 —48 de ore de la instilaţie ; *d*) în sfîrşit, dacă administrarea tuberculinei se face intravenos, în 5 — 10 ore apare un sindrom febril şi, dacă doza a fost mare, moartea poate surveni în 24 — 48 de ore.

Reacţia de hipersensibilitate poate fi declanşată de orice fracţiune bacilară care conţine tuberculoproteina (bacili integrali sau degresaţi, filtrate de cultură, extracte proteice bacilare etc.), precum şi de haptena proteică purificată a tuberculoproteinei (PPD = *purified protein derivative*) ; haptena polizaharidică provoacă în special reacţii de tip anafilactic, după administrarea de concentraţii mari, iar componenta nucleică a tuberculinei nu incită reacţii caracteristice.

Reacţia la tuberculină poate fi declanşată la organisme infectate cu bacili tuberculoşi vii, inoculate cu bacili tuberculoşi omorîţi sau sensibilizate în mod adecvat cu tuberculoproteină în amestec cu substanţă adjuvantă (lipopolizaharidul azotat din cerurile D de la bacilii tuberculoşi umani).

Sensibilitatea la tuberculină este evidenţiabilă nu numai prin testarea tegumentară ci, în general, în orice ţesut. Ea este manifestă în special la o serie de celule, de origine monocitară, ca macrofagele şi leucocitele mononucleare din sînge, printre care limfociţii prezintă cel mai înalt grad de sensibilitate. De asemenea, celulele din focarele inflamatorii, celulele din exsudatul peritoneal, din splină, din lichidul cefalorahidian etc., provenite de la organismul tuberculos, manifestă o sensibilitate la tuberculină similară cu cea a leucocitelor sanguine. Asemenea celule, prelevate de la un organism tuberculos şi cultivate *in vitro*, în culturi de celule, îşi menţin sensibilitatea tuberculinică ; dacă însă în cultură au loc diviziune şi multiplicare celulară, atunci componentele sensibile din celulele iniţiale se „diluează" şi pragul de sensibilitate creşte (pentru declanşarea efectului citotoxic devin necesare cantităţi mai mari de tuberculoproteină).

Hipersensibilitatea faţă de tuberculină a celulelor mononucleare dintr-un organism tuberculos se manifestă printr-o degenerare morfologică şi funcţională a celulei, care începe la 6 — 10 ore de la contactul cu antigenul şi este maximă la 24 — 72 de ore (în funcţie de concentraţia de tuberculină din mediu). Morfologic, se observă o etalare a citoplasmei cu formarea de numeroase vacuole, concomitent cu ştergerea desenului cromatinian al nucleului ; uneori se observă ratatinarea întregii celule. Sub

Scanned with OKEN Scanner

acţiunea tuberculinei, aceste celule îşi reduc, pînă la abolire, capacitatea fagocitară şi pinocitară, potenţialul de mobilizare şi activităţile enzimatice (Păunescu, 1968). În contact cu tuberculoproteina, celulele de origine monocitară de la animalele hipersensibilizate îşi pierd capacitatea de a reţine coloranţii vitali (albastrul de tripan, acridin-oranjul).

Inocularea intravenoasă de tuberculoproteină la un animal tuberculos (sau vaccinat BCG) conduce la reducerea numărului de elemente monocelulare din exsudatul peritoneal, ca urmare a unui proces de citoaderenţă şi mai puţin lizei celulare (Nelson şi Boyden, 1963).

Procesele de citoaderenţă sînt mijlocite de anticorpii citofili pentru macrofage (Boyden şi Sorkin, 1960). Cu ajutorul unei tuberculoproteine marcată radioactiv s-a putut pune în evidenţă, prin tehnica autoradiografică, fixarea antigenului specific pe suprafaţa macrofagelor sensibilizate (Păunescu şi colab., 1970, 1971). Ca urmare a acestei fixări, macrofagele pot forma veritabile reţele tridimensionale, în care punţile dintre celule sînt realizate chiar de moleculele de antigen, fixate simultan pe mai multe celule macrofagice. O asemenea „reţea" de macrofage poate contribui la reacţia de inhibiţie a migrării macrofagelor, descrisă iniţial în 1932, de către Rich şi Lewis (cap. 6).

Macrofagele sensibilizate manifestă în plus un răspuns metabolic particular la contactul cu antigenul specific. Astfel, macrofagele de la un organism normal nu sînt afectate de prezenţa PPD în concentraţii sub 0,2 mg/ml, în timp ce adăugarea de mici concentraţii (0,001 — 0,01 mg/ml) în culturi de macrofage provenite de la organisme tuberculizate provoacă o reacţie lizosomală rapidă şi intensă, care poate merge pînă la citoliza macrofagelor (Păunescu şi colab., 1967).

Citoliza prin tuberculină a celulelor provenite de la organisme tuberculoase este favorizată de un factor plasmatic şi de unul limfocitar (cap. 2), care pot fi identici; complementul nu este esenţial pentru desfăşurarea acestui proces (Waksman, 1963).

Tratarea prealabilă a tuberculinei cu un ser imun specific neutralizează capacitatea acesteia de a declanşa fenomenele de răspuns imun de tip întîrziat, atît *in vivo*, cît şi *in vitro* (Păunescu, 1968).

Alergia tuberculinică apare astfel ca un proces imunologic, specific, de răspuns al organismului la un antigen de origine bacteriană, care acţionează în condiţii particulare, în asociaţie cu substanţe tot de origine bacilară, cu structură lipopolizaharidică azotată, neantigenică, dar cu efecte „adjuvante". Starea de alergie tuberculinică este legată strict de reactivitatea unor elemente ale sistemului reticulo-histiocitar, iar la desfăşurarea proceselor specifice — inclusiv transferul pasiv — nu participă anticorpii circulanţi. Prin caracterele sale, alergia tuberculinică constituie deci un exemplu elocvent de hipersensibilitate de tip celular întîrziată.

b) Hipersensibilizarea prin transplantare

Transplantarea ţesuturilor, organelor sau tumorilor, chiar la indivizi de aceeaşi specie (homografă sau grefă alogenică) sau din aceeaşi familie (izografă sau grefă singeneică) declanşează o serie de reacţii celulare, de tipul hipersensibilităţii întîrziate, care duce în final la eliminarea homo-

Scanned with OKEN Scanner

grefei respective. Aceste procese au fost larg investigate în ultimii ani, datorită importanţei deosebite care se acordă în prezent metodelor terapeutice prin transplante de ţesuturi şi organe (cap. 8).

Sensibilizarea la homografe poate fi realizată experimental atît prin grefarea directă a ţesuturilor (tumorilor), cît şi prin inocularea unei suspensii de timocite sau celule limfoide emulsifiate în adjuvant Freund.

În *evoluţia unei homografe*, după efectuarea ei, se pot observa mai multe faze: iniţial, grefonul este palid (nevascularizat), pentru ca în următoarele 2 — 4 zile să se coloreze în roz (ca urmare a unui proces de revascularizare). Din ziua a şaptea, grefonul începe să se cianozeze (semn al anoxemiei locale, prin încetinirea circulaţiei); în acest moment se constată prezenţa primelor semne ale reacţiei „gazdei contra grefei": în sîngele circulant se pot pune în evidenţă anticorpi faţă de aşa-numitele „antigene de transplantare" (antigene provenite din grefon) şi, concomitent, se pot declanşa reacţii de hipersensibilitate de tip întîrziat faţă de aceste „antigene de transplantare" (vezi p. 87). Ulterior, de obicei după ziua a zecea, grefonul — în continuare cianotic — începe să prezinte pe suprafaţa sa o serie de puncte brune şi hemoragice, semne ale obsturaţiei vasculare prin tromboză; în final, homografa devine necrotică, uscată şi dură, sfîrşind prin a se detaşa şi a se elimina.

Histologic, în cazul unei homografe de 5 — 6 zile, în manşoanele perivasculare apar infiltrate cu celule limfoide; ulterior, acestea se infiltrează din ce în ce mai adînc în grefon. În cea de a şaptea zi se poate remarca o puternică exacerbare a frecvenţei mitozelor în zona în care s-au infiltrat celulele limfoide. Urmează apoi trombozarea vaselor şi oprirea mitozelor, procese de necroză şi, în final, eliminarea grefei.

Dacă după eliminarea unei prime grefe se realizează o a doua grefă, provenită de la acelaşi donator, atunci aceasta din urmă va fi eliminată mai repede decît prima; deseori, cea de a doua grefă nu mai apucă să se vascularizeze (*fenomenul de grefă albă*). Acest proces sugerează o natură imunitară a fenomenului de eliminare a grefei. În acelaşi sens pledează şi faptul că orice factor susceptibil de a modifica reacţia imunitară a receptorului sau capacitatea antigenică a grefonului poate împiedica eliminarea grefei; dintre agenţii care pot opri rapoartele imunologice dintre gazdă şi grefon trebuie menţionaţi în primul rînd radioterapia totală, corticoterapia, citostaticele (antifolice, radiometrice şi antimetaboliţii ADN), precum şi derivaţii de rifamicină (cap. 2, p. 53).

Alte argumente indirecte pentru considerarea procesului de eliminare a grefelor ca rezultat al unui mecanism imunologic sînt furnizate de condiţiile biologice care permit reuşita grefei: *a*) existenţa unei similitudini antigenice între gazdă şi grefon (cazul autografelor sau al izografelor între gemenii homozigoţi sau între indivizi din linii pure); *b*) absenţa naturală a capacităţii de răspuns imunologic din partea receptorului (cazul unor nevertebrate, lipsite de sistemul limforeticular); *c*) lipsa vascularizaţiei sanguină sau limfatică la locul implantării grefei (cazul corneei), care împiedică realizarea schimburilor de antigene de la grefon la gazdă şi a anticorpilor de la gazdă la grefon.

Scanned with OKEN Scanner

În afară de argumentele directe, existenţa unor mecanisme imunologice la baza fenomenului de eliminare a homo- şi heterografelor a fost probată printr-o serie de elemente directe :

a) După cum s-a menţionat, în 5 — 8 zile de la realizarea grefei, se constată — în organismul receptorului — apariţia de anticorpi circulanţi şi instalarea unei stări de hipersensibilitate de tip întîrziat faţă de antigenele grefonului (transplantului).

b) Dacă la receptor se administrează intradermic leucocite provenite de la donator, la locul de inoculare se constată o reacţie inflamatorie de tip tuberculinic.

c) Dacă la donator se inoculează celule limfoide, provenite din ganglionii limfatici ai receptorului de la nivelul regiunii ce drenează grefa, la locul de inoculare se constituie un răspuns inflamator persistent, de tip tardiv.

d) Celulele limfoide ale receptorului pot transfera pasiv, la un individ normal, starea de hipersensibilitate de tip întîrziat faţă de antigenele grefonului (transplantului).

e) Dacă celulele limfoide imune de la receptor se pun *in vitro* în prezenţă de leucocite provenite de la donator, atunci se observă o agregare a acestora din urmă în jurul celulelor limfoide ale primitorului („celule-ţintă"), care în scurt timp prezintă fenomene de degenerescenţă.

f) Histocompatibilitatea între receptor şi donatorul prezumtiv poate fi testată în *culturi de limfocite amestecate* (cap. 6), cu leucocite periferice provenite de la cele două organisme ; în caz de histoincompatibilitate, în ziua a 2-a de cultură se pot observa transformare blastică şi mitoză limfocitară, ca urmare a stimulului.

Organismele sensibilizate prin practicarea unei homografe prezintă două tipuri de răspuns inflamator (Brent şi Medawar, 1967):

1) *O reacţie directă* de hipersensibilitate, obţinută prin inocularea intradermică a substanţei antigenice din limfocite.

2) *O reacţie de transfer* — denumită „reacţie de transfer a limfocitelor imune (reacţie TLI)" — care constă în inocularea intradermică la animalul donator de limfocite (din ganglionii limfatici, sînge sau exsudatul peritoneal) provenite de la animalul sensibilizat în prealabil cu antigen de la animalul donator. La locul de inoculare a limfocitelor are loc o reacţie inflamatorie cu monocelulare, de tipul celei de hipersensibilitate întîrziată, la care zona de indurație este mai largă şi mai intensă decît în cazul reacţiei directe. Reacţii TLI au fost realizate la cobai, hamsteri, iepuri etc.

Reacţia TLI nu trebuie confundată cu *reacţia de transfer pasiv* a hipersensibilităţii la homografă, care se realizează tot cu limfocite de la animalul sensibilizat, însă acestea sînt transferate unui animal normal, pe care-l sensibilizează contra homografei ; adică, încercarea de a grefa un ţesut omolog la acest din urmă animal va fi urmată — imediat după ce a primit limfocitele sensibilizate — de o reacţie inflamatorie celulară masivă, care va elimina homografa.

Mecanismul de producere a fenomenului de eliminare a grefelor (tisulare, de organ, tumorale) are deci la bază fenomenul de hipersensibilitate celulară. La organismul receptor se realizează o sensibilizare a celulelor reticulo-limfocitare faţă de antigenele sesile din ţesutul grefat şi după 5 — 7 zile de la grefare, perioadă în care se instalează starea de hiper-

Scanned with OKEN Scanner

sensibilitate, la locul de transplantare se dezvoltă o reacţie celulară de tip întîrziat, care duce la eliminarea grefei.

Această reacţie poate fi oprită sau prevenită prin mijloacele variate care duc fie la oprirea procesului de inducţie a hipersensibilităţii (administrarea de metotrexat, ciclofosfamidă etc.), fie la eliminarea celulelor limfocitoide efectoare (drenarea lor prin canalul toracic, iradierea cu raze X etc.).

c) Boli autoalergice

Există numeroase dovezi că, în patogeneza mai multor boli autoimune este implicată şi o stare de hipersensibilitate de tip întîrziat, care contribuie nemijlocit la inducţia leziunilor tisulare (Roitt şi Doniach, 1967).

Experimental, *leziuni tisulare de tip autoimun* se pot obţine prin inducerea hipersensibilităţii unui anumit organ sau ţesut; aceasta se realizează prin inocularea unui broiaj din ţesutul sau organul respectiv, emulsionat în adjuvant Freund complet. După cîteva zile de la inocularea primară, dacă se administrează intradermic o nouă injecţie, se observă o serie de modificări locale printre care predomină aglomerarea de limfocite de origine sanguină în venulele mici. Acest aspect contrastează net cu cel observat în reacţiile imediate de tip Arthus, în care răspunsul esenţial îl constituie infiltraţia cu polimorfonucleare, datorită precipitării complexelor antigen-anticorp în endoteliul parietal al vaselor sanguine.

Examenele histologice efectuate pentru evidenţierea leziunilor survenite în boli autoimune ca encefalomielitele autoalergice experimentale şi în tiroiditele autoalergice au arătat prezenţa unor aglomerări similare perivasculare de celule limfocitare. În cazul colitelor ulcerative a fost demonstrat efectul citotoxic al celulelor limfoide sanguine, provenite de la asemenea bolnavi, pentru fragmentele de intestin subţire, cultivate *in vitro*; trebuie subliniat că serul de la aceşti bolnavi nu manifestă un astfel de efect distructiv (spre deosebire de serul bolnavilor cu boală Hashimoto, la care anticorpii serici sînt capabili să distrugă celulele tiroidiene, cultivate *in vitro*, în care caz, însă, limfocitele nu posedă asemenea proprietăţi citotoxice).

În artritele reumatice de asemenea nu a putut fi evidenţiat vreun efect distructiv al serului asupra celulelor sinoviale, spre deosebire însă de acţiunea citotoxică a celulelor limfoide din ganglionii limfatici asupra ţesutului amniotic. Într-un alt studiu, comparabil, Hedberg şi Källen (1964) au evidenţiat un efect citotoxic al limfocitelor recoltate din lichidul sinovial al artritelor reumatoide, a supra culturilor de fibroblaşti umani; efectul destructiv se putea obţine în unele cazuri strict prin prezenţa limfocitelor, iar în alte cazuri era necesară şi adăugarea de ser sanguin.

Aceasta face să se considere că, într-o serie de disfuncţii autoimune umane, pe lîngă o componentă de hipersensibilitate de tip întîrziat, există şi o participare a anticorpilor circulanţi, asociată sau independentă de procesele de sensibilitate celulară.

Scanned with OKEN Scanner

E. MECANISMELE HIPERSENSIBILITĂȚII DE TIP ÎNTÎRZIAT

O bună parte din studiile privind mecanismele hipersensibilităţii celulare au fost întreprinse cu ajutorul alergiei tuberculinice : există însă, în prezent, o serie de studii, din ce în ce mai numeroase, în care mecanismele hipersensibilităţii de tip întîrziat sînt investigate cu alte tipuri de antigene, folosindu-se adesea proteine purificate pentru inducţia şi declanşarea reacţiilor.

Intradermoreacţia la tuberculină rămîne exemplul clasic pentru reacţiile de hipersensibilitate întîrziată sau pentru reacţiile de „tip IV", după denumirea folosită de Gell şi Coombs (1963). Aceste reacţii manifestă o întîrziere caracteristică a debutului, în comparaţie cu reacţiile mediate de anticorpi. Transferul lor poate fi efectuat numai cu celule limfoide viabile (Landsteiner şi Chase, 1942 ; Chase, 1945 ; Lawrence, 1949) sau, la om, cu extracte celulare (Lawrence, 1955) care conţin „factorul de transfer" (Lawrence şi Valentine, 1970).

Celulele reactive sînt constituite din mici limfociţi (Gowans şi colab., 1962), care par să aibe origine timică (Miller 1961, 1971 ; Parrot şi De Sousa, 1966 ; Miller şi Mitchell, 1969) (cap. 2). Timus-dependenţa acestor reacţii a fost demonstrată la o serie de sisteme animale (Peterson şi colab., 1965) ; ea este de asemenea sugerată de mai multe boli cu deficienţă imună care manifestă numai hipersensibilitatea întîrziată (cu absenţa totală a celulelor producătoare de anticorpi) şi la care aplazia timusului cauzează severe tulburări ale răspunsului întîrziat.

Reactivitatea celulară în hipersensibilitatea întîrziată cuprinde două grupe principale de procese : fixarea antigenelor pe celule şi reacţia limfocitară.

Fixarea celulară a antigenului. În conformitate cu teoria selecţiei clonale, emisă de Burnet şi general acceptată în prezent, există în organismele imunizate un mic număr de imunocite capabile să fixeze anumite antigene. Dacă asemenea antigene sînt administrate organismului imunizat va rezulta o proliferare selectivă a imunocitelor în cauză, drept consecinţă a *fixării selective a antigenului pe limfocitul sensibilizat*, proces care stimulează diferenţierea blastică şi mitoza acestor celule. Acest tip de procese a fost demonstrat pentru numeroase antigene (Ada, 1970), ca şi pentru PPD (Donald şi Beck, 1971). Astfel, Donald şi Beck constată că, în timp ce numai 0,4% din limfocitele periferice ale cobaiului normal fixează PPD marcat cu ^{125}I, la 14 zile de la imunizarea cu BCG o proporţie de 14% din limfocitele periferice fixează PPD-^{125}I ; ulterior, după alte 3—4 săptămîni, proporţia de limfocite ce fixează PPD scade pînă la 1,5%.

Reacţia limfocitară. Transformarea blastică şi mitoza limfocitară consecutivă au fost demonstrate în 1960, *in vitro*, de către Nowell, cu ajutorul mitogenilor nespecifici, ca PHA (cap. 2 şi 6); la acest mitogen răspund selectiv limfocitele de origine timică (Janossy şi Greaves, 1971, 1972). Activări selective similare ale celulelor T au fost demonstrate cu concavalina A (Stobo şi colab., 1972 ; Anderson şi colab., 1972), în timp ce lipopolizaharidul extras din bacteriile Gram-negative (antigenul Boivin-Mesrobeanu) activează selectiv proliferarea celulelor B (Anderson şi colab., 1972). Antigenele activează proliferarea celulelor B în cazul

imunității umorale și multiplicarea celulelor T în cazul imunității mediată celular (Oppenheim, 1968).

Mecanismele reacției limfocitare în hipersensibilitatea întîrziată au fost cu precădere studiate la organismele tuberculizate. Activarea selectivă prin PPD a limfocitelor provenite de la asemenea organisme a fost semnalată de Pearman (1963). Limfocitele de la organisme tuberculino-pozitive sînt stimulabile *in vitro* prin PPD, în timp ce limfocitele de la organisme tuberculino-negative nu sînt (Schrek, 1963).

Între răspunsul limfocitar *in vitro* și intradermoreacția la tuberculină a fost găsită o bună corelație în cele mai multe cazuri (Kerby, 1968; Hinz și colab., 1970). Unii autori au semnalat însă și discordanțe (Aspegren și Rorsman, 1964; Metsaniotis și Tsenghi, 1968; Thomas și colab., 1971). Studiile detaliate asupra acestor corelații, întreprinse de către Nilsson (1972), au arătat că răspunsul *in vitro* al limfocitelor la PPD manifestă diferențe caracteristice în funcție de concentrația de PPD în mediu. S-a precizat de asemenea că există o corelație strînsă între potențialele unor preparate tuberculinice testate *in vivo* și răspunsul limfocitar *in vitro*. În sfîrșit, Nilsson constată că limfocitele B provenite de la șoareci neimunizați, pot fi activate *in vitro* de către PPD, ceea ce sugerează că celulele B pot fi implicate în răspunsul limfocitar de tip tuberculinic.

Timus-dependența reacțiilor de hipersensibilitate întîrziată, astăzi bine precizată (Peterson și colab., 1965), a condus la conceptul că aceste reacții sînt mediate de către celule T. Consecutiv, s-a gîndit că celulele ce reacționează cu antigenul (PPD) *in vitro* sînt celule T, cu atît mai mult cu cît s-a constatat că aceste limfocite liberează, în contact cu antigenul, o serie de substanțe active biologic, care — sub un anumit aspect — au o funcție similară cu cea a anticorpilor: amplifică răspunsul celular (cap. 2). Dintre aceste substanțe active (Lawrence și Landy, 1969), cele mai importante în procesele de hipersensibilitate întîrziată sînt factorul de inhibiție a migrării macrofagelor și factorii mitogeni de diferite tipuri.

Inducția inhibării migrării macrofagelor prin PPD, în cazul leucocitelor provenite de la organisme tuberculoase, a fost inițial semnalată de către Rich și Lewis (1932). Ulterior, David și Lawrence (1964) au arătat că numai un mic număr de limfocite imune sînt necesare pentru a iniția reacția la un mare număr de macrofage. Aceste fapte au fost explicate prin „factorul de inhibiție a migrării", eliberat de limfocite în prezența antigenului, care este capabil să oprească migrarea macrofagelor (Bloom și Bennett, 1968; Thor și colab., 1968; Rocklin și colab., 1970). Acest factor are o natură proteică și o greutate moleculară de circa 60 000 (Bloom și Bennett, 1970).

După cum s-a bănuit de mai mult timp (Mc Clusky și colab., 1963), nu toate celulele care iau parte la răspunsul imun sînt specific sensibilizate la antigen. Aceasta înseamnă că, pentru a participa la reacție sînt recrutate într-o manieră specială și celulele nesensibilizate, iar „recrutarea" se face prin intermediul substanțelor secretate de limfocitele sensibilizate. Aceste *substanțe active biologic* par să fie de două categorii: *unele*, de tipul „factorului blastogen" (Janis și Bach, 1970), sînt produse atît de limfocitele stimulate, cît și de cele nestimulate și sînt capabile să stimuleze alte limfocite — izogene sau alogene — în absența antigenului; *altele*, de tipul „factorului de potențare" (Bloom și Bennett, 1968—1970), sînt

produse în cantităţi similare dar nu-şi exercită acţiunea decît *în prezenţa antigenului* (Nilsson, 1972 ; Păunescu, 1972). Aceşti „factori de potenţare" realizează amplificarea răspunsului imun de hipersensibilitate întîrziată prin „sensibilizarea" unui mare număr de celule normale şi determinarea lor, în acest fel, să participe la răspunsul celular.

*

Posibilitatea de a induce cu diferite antigene pe cale experimentală, starea de hipersensibilitate întîrziată, precum şi interesul particular pe care-l prezintă această stare nu numai pentru unele boli infectocontagioase şi autoimune, dar în special pentru problema actuală a transplantelor de organe, a stimulat efectuarea a numeroase studii, care au contribuit la lămurirea diferitelor aspecte şi mecanisme intime ale acestui fenomen. O descriere a rezultatelor acestor studii se poate face diferenţiat, ţinîndu-se seama de cele două aspecte majore ale fenomenului: procesul de inducţie şi procesul de manifestare a hipersensibilităţii întîrziate.

Procesul de inducţie a hipersensibilităţii întîrziate antrenează o serie de fenomene celulare ale ţesutului limfoid în special de la nivelul ganglionilor limfatici care drenează aria de aplicare a antigenului sensibilizant (substanţă chimică sau homografă).

Pentru studiul curent al mecanismelor de inducţie a hipersensibilităţii întîrziate se utilizează ca loc de inoculare a antigenului sensibilizant fie urechea animalului (cobai, iepure), fie regiunile plantare, pentru a putea investiga modificările survenite la nivelul ganglionilor limfatici locoregionali (auricular şi popliteu). La 2 zile de la inocularea antigenului sensibilizant, în aceşti ganglioni încep să se dezvolte „arii paracorticale", care, în ziua a 3-a sau a 4-a de la inoculare, ajung să ocupe o treime din ganglionul limfatic (p. 178); concomitent, în aceste arii apar numeroase celule pironinofile mari (limfoblaşti sau „imunoblaşti") care ajung pînă la 10% din numărul celulelor prezente pe amprenta ganglionară şi pînă la 20% din totalul celulelor prezente în aria paracorticală. A doua zi de la apariţia explozivă a acestor imunoblaşti (practic cam în a cincea zi de la inoculare) se poate demonstra pozitivarea IDR tegumentare (Turck, 1967).

Imunoblaştii sînt celule foarte active metabolic şi cu o mare capacitate de multiplicare: studiile care au utilizat baze purinice sau pirimidinice marcate radioactiv (^{3}H-timidină) au arătat rapida încorporare a acestora în acidul dezoxiribonucleic (DNA) al imunoblaştilor. După 12—24 de ore, ^{3}H-timidina a fost regăsită într-o serie de limfociţi mici, însă în cantităţi pe jumătate cît cea din imunoblaşti, ceea ce întăreşte concluzia că, prin diviziune, imunoblaştii dau naştere la limfociţi mici. Dealtfel, în a 5-a zi de la administrarea agentului sensibilizant, numărul limfocitilor mici din ganglionul limfatic regional ajunge să depăşească 4% din totalul celulelor. Pentru proveniența acestor limfociţi mici din imunoblaşti argumentează în plus şi studiile care au folosit administrarea antimetabolitului metotrexat, care inhibă sinteza DNA în imunoblaşti şi împiedică procesul de diviziune al acestora; administrarea metotrexatului are astfel ca rezultat final prevenirea creşterii numerice a limfocitilor mici în cea de-a 5-a zi de la sensibilizare şi, concomitent, blocarea procesului de apariţie a stării de hipersensibilitate de tip întîrziat (Turck, 1967). Acelaşi proces de

transformare a imunoblaştilor în limfociţi mici a fost observat şi la nivelul focarelor tuberculoase vechi (granuloame tuberculoase), de către Spector (1967).

Deoarece limfocitul mic derivă din imunoblast şi inhibiţia diviziunii imunoblastului în limfociţi mici duce la blocarea instalării hipersensibilităţii de tip întîrziat, se ajunge la concluzia că limfocitului mic îi revine rolul de *celulă efectoare*, care primeşte informaţia antigenică de la imunoblaşti şi o vehiculează în întregul organism.

În ceea ce priveşte modalitatea în care însăşi imunoblastul ajunge în posesia informaţiei antigenice, unele cercetări au contribuit la cunoaşterea mecanismelor de detaliu. După cum se ştie (Waksman, 1963), informaţia antigenică este formulată la nivelul celulelor fagocitare care preiau antigenul de la locul de pătrundere în organism şi îl fragmentează în interiorul unor formaţiuni citoplasmice cu funcţii digestive, denumite „fagosomi"; în cursul acestei fragmentări, are loc „analiza" structurii fizico-chimice a moleculei de antigen şi codificarea informaţiei astfel dobîndită. Celula fagocitară care a realizat această analiză a structurii antigenice este apoi capabilă să transfere informaţia specifică dobîndită altor celule imunocompetente, aşa cum a demonstrat Fishamn (1961) şi alţi autori în cazul culturilor *in vitro* de celule ganglionare normale, care devin capabile să sintetizeze anticorpi dacă li se adaugă extracte de macrofage puse anterior în contact cu antigenul specific.

Fagosomii, la nivelul cărora are loc digestia parţială şi analiza structurii antigenului, sînt constituiţi din vacuole fagocitare contopite cu particulele citoplasmice (lizosomi) ce deţin enzimele hidrolitice acide, care asigură desfăşurarea proceselor de digestie intracelulară. Lizosomii sînt prezenţi, în mare număr, în mononuclearele fagocitare, celule care în mod obişnuit efectuează analiza antigenului şi identificarea informaţiei antigenice.

Se poate astfel gîndi că imunoblastul ajunge în posesia informaţiei antigenice prin intermediul macrofagelor care au preluat antigenul de la locul de pătrundere în organism, l-au analizat şi apoi au pătruns în ganglionul limfatic regional, unde transmit limfoblastului informaţia specială dobîndită. În afară de macrofag, particule lizosomale au fost însă identificate şi într-o serie de limfociţi mici, prezenţi în sîngele periferic (Allison şi Mallucci, 1964; Hirschhorn şi colab., 1965), ceea ce sugerează interesarea acestora în procesul de preluare a moleculei antigenice, analiza structurii ei şi transferul informaţiei dobîndite; aceasta pare cu atît mai probabil cu cît accesul limfocitilor mici în ganglionul limfatic de drenaj este obişnuit. Dealtfel, lucrările întreprinse de Diengdoh şi Turck (1965) au demonstrat că, în ariile paracorticale ale ganglionului de drenaj, la 4 zile de la aplicarea sistemului antigenic, proporţia de limfociţi mici care conţin lizosomi creşte de la 1 la 9%, iar media numărului de lizosomi pe celulă creşte de asemenea de la 3 la 8. Originea acestor limfociţi mici posesori de lizosomi pare să fie extraganglionară (din sîngele periferic) şi nu din imunoblaşti, deoarece ei au fost identificaţi şi în ganglionii animalelor tratate cu metotrexat, care se ştie că blochează diviziunea imunoblaştilor în limfocitii mici. Dealtfel, în acelaşi sens pledează şi cercetările care au arătat o creştere numerică a limfocitilor mici ce conţin lizosomi, precum şi creşterea numărului mediu de lizosomi în limfocitii mici din sîngele peri-

Scanned with OKEN Scanner

feric al cobailor tuberculo-sensibili, în comparaţie cu cobaii normali (Turck, 1967).

Schematizînd cunoştinţele actuale asupra procesului de inducţie a hipersensibilităţii de tip întîrziat, se poate spune că, la locul de pătrundere a antigenului, acesta este preluat de o serie de celule fagocitare, printre care şi limfocitul mic, purtător de lizosomi; aceste celule dobîndesc astfel informaţia antigenică, pe care o duc în ganglionul regional. Aici, datorită stimulului pe care-l constituie prezenţa antigenului, are loc o formare masivă de celule blastice, pironinofile — imunoblaştii — care fie că preiau informaţia antigenică de la limfociţii mici, fie că se diferenţiază direct din aceştia, aşa cum au demonstrat Strober şi Gowans (1965) în cazul sensibilizării cu homografe renale. Ulterior, cam în a 5-a zi de la aplicarea stimulului antigenic, imunoblaştii se diferenţiază prin diviziune din nou în mici limfociţi, care de această dată poartă informaţia hipersensibilizată şi care sînt vărsaţi în circulaţie, fiind astfel răspîndiţi în întreg organismul.

Procesul de manifestare a hipersensibilităţii de tip întîrziat. La cîteva zile (de obicei 5—6) de la administrarea antigenului inductor al stării de hipersensibilitate celulară, aceasta poate fi pusă în evidenţă printr-o nouă administrare a antigenului, care are drept urmare realizarea — la locul de inoculare — a unui proces inflamator, cunoscut sub numele de *reacţie de tip întîrziat*.

Histologic, la locul de administrare a antigenului, procesul de manifestare a hipersensibilităţii de tip întîrziat este caracterizat printr-un aspect dublu, bifazic: iniţial, în primele două ore de la administrarea antigenului, domină infiltraţia de polinucleare, pentru ca — de obicei la 3—4 ore — să apară o primă intensificare a aportului de mononucleare; după această primă dominare a mononuclearelor, se constată din nou un aflux de polinucleare, care, în final, între orele 8 şi 12 de la administrarea antigenului, sînt din nou şi de această dată definitiv puse în inferioritate de o nouă invazie a mononuclearelor.

Aportul de polinucleare nu este specific; ele constituie o reacţie obişnuită, de tip „corp străin", care este provocată de pătrunderea unei substanţe străine (în acest caz antigenul) în organism; dealtfel, cu cît cantitatea de antigen introdusă este mai mare, cu atît afluxul iniţial de polinucleare este mai masiv, dominarea numerică a mononuclearelor instalîndu-se în acest caz mai tardiv. De asemenea, specificitatea reacţiei nu este definită atît de caracterul său bifazic (Spector, 1963), cît de prezenţa şi aglomerarea de mononucleare, care manifestă o sensibilitate cu totul particulară faţă de antigenul specific. Această sensibilitate particulară a mononuclearelor animalului hipersensibilizat poate fi evidenţiată prin mai multe metode. Astfel, mononuclearele din exsudatul peritoneal al unui animal hipersensibilizat (vaccinat cu BCG), dacă sînt puse în prezenţa antigenului specific (PPD), prezintă o inhibiţie marcată a mobilităţii lor (David şi Lawrence, 1964; Păunescu, 1968). De asemenea, dacă în culturi de monocite de la cobai tuberculino-sensibili se adaugă tuberculină, se observă vacuolizarea macrofagelor, scăderea capacităţii fagocitare şi, în final, detaşarea celulelor din cultură (Kapral şi Steinebring, 1958). Prezenţa tuberculinei în culturi suspendate de mononucleare de la cobaiul vaccinat BCG duce atît la accelerarea diferenţierii celulelor mononucleare mici în macrofage (Waksman şi Matolsky, 1958) şi a limfocitelor mici în

celule proliferante bogate în lizosomi, cît şi la inducţia sintezei de DNA şi la diviziunea mitotică a macrofagelor (Dumonde, 1967). Acţiunea diferenţiatoare a antigenului este demonstrabilă şi histochimic (Eskenasy şi Stoica, 1967).

O serie de lucrări (Boyden şi Sorkin, 1960; Boyden, 1964; Berken şi Benacerraf, 1966) au arătat că inhibiţia migrării macrofagelor în prezenţa antigenului sensibilizant poate fi obţinută şi în cazul celulelor normale, dacă acestea sînt puse în prealabil în prezenţa serului de la un animal sensibilizat. Aceste studii au demonstrat, în serul animalelor hipersensibilizate, existenţa unor *anticorpi citofili pentru macrofage*, care pot fi adsorbiţi şi de macrofagele normale şi care pot fixa specific antigenul sensibilizant. Odată fixat antigenul, grupul de macrofage intrat în reacţie manifestă blocarea capacităţii de migrare (Păunescu şi colab., 1970). Asemenea anticorpi citofili apar numai în serul animalelor imunizate cu antigenul înrobat în adjuvant Freund complet şi au fost identificaţi în grupul anticorpilor γ-2, care conţin atît anticorpi citofili (opsonizanţi pentru macrofage), cît şi anticorpi fixatori de complement (Berken şi Benacerraf, 1966).

Anticorpii citofili se fixează la suprafaţa macrofagelor prin intermediul anumitor structuri care sînt sensibile la tratarea rapidă cu tripsină a celulei (David şi colab., 1964). Astfel, tripsinizarea prealabilă a mononuclearelor normale le face incapabile de a mai fixa anticorpii citofil, iar tripsinizarea mononuclearelor sensibilizate duce atît la scăderea intensităţii fenomenului de inhibiţie a migrării în prezenţa antigenului specific, cît şi la pierderea capacităţii acestor celule de a „sensibiliza" mononuclearele normale cu care sînt puse în contact.

Celulele mononucleare sensibile care sînt tripsinizate, cu toate că nu mai răspund la prezenţa antigenului specific şi nu mai pot fixa anticorpi citofili, îşi păstrează totuşi intactă capacitatea de a transfera pasiv hipersensibilitatea de tip întîrziat. Aceasta dovedeşte că anticorpii citofili pot participa la fenomenul de inhibiţie a migrării mononuclearelor şi, posibil, la alte manifestări ale hipersensibilităţii de tip întîrziat; aceşti anticorpi nu sînt însă în nici un fel implicaţi în *inducerea* stării de hipersensibilitate celulară deoarece eliminarea lor (prin tripsinizare) nu afectează capacitatea limfocitelor din amestec de a transfera pasiv hipersensibilitatea de tip întîrziat.

Dealtfel, în procesele de hipersensibilitate celulară, se pare că interesarea macrofagului — singura celulă capabilă să fixeze anticorpii citofili — este secundară, rolul principal revenind limfocitului. În acest sens, dacă din exsudatul peritorneal de cobai sensibilizat cu BCG se realizează culturi în monostrat, atunci pe lama de cultură rămîn fixate numai macrofagele, iar limfocitele pot fi îndepărtate o dată cu mediul iniţial de cultură. Aceste macrofage rămase în cultură nu manifestă o sensibilizare prea mare la tuberculină; în schimb, dacă se adaugă 5% din limfocitele îndepărtate din cultură, sensibilitatea macrofagelor fixate se restabileşte. De asemenea, dacă limfocitele scoase din cultură sînt amestecate într-o proporţie foarte mică (numai 2%) cu celulele unui exsudat peritoneal de la cobaiul normal, ele pot conferi acestei populaţii, iniţial normală, o sensibilitate netă la tuberculină.

Sensibilizarea unei culturi de macrofage de la animalul normal poate fi realizată şi printr-un *factor de potenţare* pe care îl eliberează extracelular,

ca urmare a incubării cu tuberculina, limfocitele peritoneale de la cobaiul vaccinat cu BCG (Dumonde, 1967).

Factorul de potenţare este capabil nu numai să transfere unei celule normale sensibilitatea faţă de antigenul specific, ci chiar să provoace apariţia stării de hipersensibilitate la un organism normal.

Specificitatea imunologică a răspunsului de tip întîrziat a fost cercetată atît cu haptene diferite cuplate la o aceeaşi proteină, cît şi cu un singur tip de haptenă cuplat la purtători proteici antigenici distincţi (Gell şi Benacerraf, 1961; Gell şi Silverstein, 1962; Gell şi Wolstencroft, 1967). Din aceste experienţe a rezultat o specificitate marcată a purtătorului în cazul reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată, spre deosebire de specificitatea haptenică a anticorpilor induşi concomitent. Astfel, declanşarea răspunsului întîrziat se poate realiza cu antigenele care au acelaşi purtător proteic şi haptene diferite şi nu se poate obţine cu antigene care au aceeaşi haptenă dar purtători proteici diferiţi. Haptenele singure nu declanşează răspunsul imun de tip întîrziat, iar purtătorul lipsit de haptenă poate provoca un răspuns pozitiv, dar mai slab ca intensitate (circa 60%); purtătorul haptenei, administrat singur, poate chiar desensibiliza parţial un organism, dar nu poate induce toleranţă imunologică pentru antigenul complet.

În acelaşi condiţii, blocarea anticorpilor circulanţi se poate obţine fie direct cu haptena, fie cu antigenele care au aceeaşi haptenă, indiferent de purtătorul proteic.

Transferul pasiv al hipersensibilităţii întîrziate, realizat pentru prima dată de către Chase (1945), se poate efectua cu ajutorul celulelor din exsudatul peritoneal, splină şi ganglionii limfatici de la animalele sensibilizate în prealabil. Toate aceste populaţii celulare conţin un procent mai mic sau mai mare de limfocite, care poartă fixată informaţia antigenică şi care sînt capabile să asigure transferul la organism normal. Ulterior (Lawrence, 1960), transferul pasiv al hipersensibilităţii de tip întîrziat a fost obţinut, la om, cu ajutorul extractelor leucocitare; în aceste experienţe, primitorul dobîndea o sensibilitate activă tipică, fără să fie transferată nici o celulă intactă. Substanţa activă din aceste extracte celulare este dializabilă (are deci o greutate moleculară redusă) şi prezintă caracterele chimice ale nucleotidelor. Transferul pasiv al hipersensibilităţii întîrziate cu ajutorul „factorului de transfer", în absenţa celulelor integrale, a fost obţinut la cobai, şoareci, iepuri prin intermediul unor experienţe ingenioase (Najarian şi Feldman, 1962; Kretschmer şi Perez-Tamayo, 1962), în care celulele sensibile erau introduse în nişte „camere de difuziune" (ce permit trecerea numai a unor metaboliţi fără să lase liberă trecerea celulelor), iar aceste camere erau implantate la animalul receptor.

Factorul de transfer (F.T.) este conţinut în limfocitele sensibilizate şi acestea îl pun în libertate, cu relativă uşurinţă, dacă sînt incubate în prezenţa antigenului specific. F.T. poate fi pus în evidenţă în supernatantul suspensiilor de limfocite sensibile la care s-a adăugat antigenul, prin capacitatea acestui supernatant de a transfera starea de sensibilitate specifică la un animal normal; după eliberarea F.T., limfocitele respective se „desensibilizează", nemaifiind capabile să transfere hipersensibilitatea de tip întîrziat (Lawrence, 1959). Dacă în suspensia de lim-

Scanned with OKEN Scanner

focite sînt prezente şi macrofage normale, atunci F.T. nu mai poate fi pus în evidenţă în supernatant; în schimb, macrofagele normale din amestec dobîndesc proprietatea de a transfera pasiv hipersensibilitatea întîrziată ceea ce dovedeşte capacitatea lor marcată de a fixa F.T. (Dumonde, 1967).

Aceste date pot explica mecanismul transferului pasiv al hipersensibilităţii de tip întîrziat, care are ca substrat F.T., prezent în limfocite. Vehicularea F.T., asigurată de obicei de către limfocite, poate fi realizată şi de către macrofage, atunci cînd această celulă a venit în contact cu limfocitul sensibilizat, de la care poate prelua factorul de transfer. Deci, în timp ce capacitatea de transfer a limfocitului este directă, nemijlocită, aceea a macrofagului este indirectă, condiţionată de preluarea de F.T. de la limfocit.

Preluarea de către macrofag a mediatorilor liberaţi de limfocite explică nu numai potenţialul macrofagului de a transfera pasiv hipersensibilitatea, ci şi sensibilitatea sa faţă de antigenul specific, ceea ce se traduce printr-o largă participare a acestei celule la diferitele manifestări ale stării de hipersensibilitate de tip întîrziat; printre acestea, trebuie amintită în primul rînd prezenţa macrofagului în reacţiile celulare de evidenţiere a stării de hipersensibilitate. Astfel, în cazul reacţiei la tuberculină, utilizarea ^{3}H-timidinei şi a carbonului coloidal pentru marcarea celulelor care se mobilizează la locul de reacţie, a evidenţiat prezenţa a 35—50 % macrofage de origine sanguină din totalul mononuclearelor acumulate (Spector, 1967), restul fiind constituit din limfocite mari, nefagocitate. Există totuşi, la locul de reacţie, şi un număr relativ redus (5—10 %) de limfociţi mici, proveniţi tot din torentul circulator, printre care unii manifestă o intensă activitate funcţională; se marchează cu ^{3}H-timidină, fixează C-coloidal şi deţin structuri lizosomale. Aceste limfocite mici, active funcţional, corespund celulelor efectoare pentru procesele de hipersensibilitate celulară. Ele corespund limfocitelor T_2, după nomenclatura propusă de Cantor (cap. 2).

După cum s-a menţionat, în reacţiile de hipersensibilitate întîrziată factorul principal declanşat de prezenţa antigenului este limfocitul sensibilizat (limfocit T-efector, limfocit T_2 etc.). Acesta, la contactul cu antigenul, eliberează o serie de mediatori farmacodinamici, dintre care unii apar dotaţi cu specificitate imunologică deoarece induc reacţii selective numai în prezenţa antigenului sensibilizant (Păunescu, 1972).

În reacţiile la tuberculină, la locul de pătrundere a antigenului apar imediat un infiltrat cu polinucleare şi o serie de mononucleare circulante, printre care şi un mic număr de limfocite sensibilizate. În contact cu antigenul specific, aceste limfocite eliberează un factor leucotactic, care stimulează acumularea — într-o fază ulterioară — a unui mare număr de celule mononucleare nesensibilizate. Acestea sînt blocate şi aglomerate local de prezenţa antigenului, prin intermediul factorului de inhibiţie a migrării leucocitare (amintit mai înainte), ceea ce are ca rezultat oprirea circulaţiei sanguine, edem şi, în fază finală, necroză. Concomitent, macrofagele sensibilizate sosite la locul de reacţie, ajunse în contact cu antigenul, suferă o activare bruscă a enzimelor lizosomale, care sînt „vărsate" extracelular şi, prin activitatea lor, accentuează procesul de distrucţie tisulară.

Dacă antigenul declanşator al reacţiei este celular (imunitate de transplant), atunci are loc o alterare a structurii sale prin aşa-numita „limfotoxină", produs al imunităţii citotoxice specifice pe care limfocitul sensibilizat o manifestă faţă de celulele „ţintă".

În sfîrşit, în special atunci cînd mici cantităţi de antigen ajung — prin circulaţia generală — la nivelul unor organe limfoide, se induce o mitoză importantă a celulelor mononucleare. În asemenea cazuri, antigenul este întîi „prelucrat" de macrofage (Jones, 1966; Oppenheim şi colab., 1968), apoi — ca urmare a contactului cu limfocitele sensibilizate — acestea suferă transformare blastică şi mitoză; concomitent ele eliberează un „factor mitotic" care — în prezenţa antigenului specific — provoacă şi multiplicarea macrofagelor (Nelson, 1969; Benestad, 1971). Acest mecanism constituie, în final, o sursă de reîmprospătare şi îmbogăţire a organismului cu celule sensibilizate efectoare.

F. HIPERSENSIBILITATEA ÎNTÎRZIATĂ ŞI PROCESELE DE REZISTENŢĂ CELULARĂ

Relaţiile dintre hipersensibilitatea celulară şi rezistenţa organismelor infectate sau vaccinate nu au fost suficient studiate pentru a se putea trage concluzii definitive.

Este cunoscut faptul că organismele desensibilizate nu manifestă o scădere paralelă a rezistenţei la tuberculoză (Rich şi colab., 1932; Wilson şi colab., 1940); de asemenea, organismele desensibilizate pot fi readuse la starea de hipersensibilitate, fără să prezinte o creştere corespunzătoare a rezistenţei (Raffel, 1950).

În acelaşi sens, macrofagele de la animalele cu rezistenţă naturală la tuberculoză pot inhiba dezvoltarea micobacteriilor fără ca aceste animale să manifeste hipersensibilitate faţă de tuberculoproteină sau faţă de antigenele de *Listeria* ori *Brucella*. Se cunoaşte, de asemenea, faptul că starea de rezistenţă poate fi evidenţiată — la animalul imunizat — mai devreme decît starea de hipersensibilitate. În mod similar, lucrările mai multor autori (Nègre, 1952; Weiss şi Dubos, 1956; Youmans, 1964; Fregnan şi Smith, 1963) au arătat că — prin folosirea unor antigene bacilare purificate — este posibil să se obţină creşterea contra infecţiei fără dezvoltarea concomitentă a alergiei celulare. În sfîrşit, în acelaşi sens ar pleda pe de o parte posibilitatea de a transfera în serie rezistenţa la tuberculoză, în mod pasiv, cu ajutorul macrofagelor „imune", fără a realiza şi o sensibilizare la tuberculină (Fong, 1962), iar pe de altă parte imposibilitatea de a evidenţia creşterea rezistenţei contra infecţiei bacilare la animale la care s-a indus starea de hipersensibilitate întîrziată prin inocularea de tuberculoproteină înglobată în adjuvant Freund.

În încercarea de a induce protecţia prin extracte celulare de macrofage imune, Oprescu şi colab. (1972) n-au putut obţine preparate de RNA sau alte fracţiuni din macrofage imune care să fie capabile de a transfera rezistenţa la macrofage normale.

Experimental, s-a dovedit că starea de hipersensibilitate singură (indusă prin administrarea de proteine înrobate în adjuvant Freund) nu

Scanned with OKEN Scanner

măreşte în nici un fel rezistenţa organismului la infecţii virulente. În schimb, un antigen micobacterian capabil să crească rezistenţa la infecţia tuberculoasă fără să inducă hipersensibilitatea tuberculinică, provoacă totuşi o sensibilizare celulară izologă a organismului vaccinat (Păunescu şi colab., 1972).

Asemenea rezultate pledează deci pentru considerarea fenomenelor de hipersensibilitate celulară şi a celor de rezistenţă celulară ca independente relativ unul faţă de altul, principala relaţie dintre cele două procese constînd în faptul că — în cazul infecţiei naturale — ele se dezvoltă concomitent, ca urmare a acţiunii unui acelaşi agent patogen.

În ceea ce priveşte efectele concomitente ale acestor două laturi ale imunităţii — *rezistenţă şi sensibilitate* — mult timp s-a insistat asupra divergenţei dintre mecanismele nocive (inhibiţia mobilităţii fagocitelor, citoliza tuberculinică etc.) ale hipersensibilităţii (Favour, 1951) şi cele eficiente antibacilar ale rezistenţei celulare. Studii mai recente au relevat însă alte efecte importante ale stării de hipersensibilitate, care au acţiune sinergică cu cele ale rezistenţei celulare. Astfel, o atenţie specială s-a acordat efectului stimulant al tuberculinei asupra maturării şi mitozelor în populaţiile celulare sensibilizate specific (Waksman şi Matoltsy, 1958; Pearman şi colab., 1963), mecanisme care asigură condiţiile necesare pentru dezvoltarea proceselor imunitare eficiente antimicrobian. De asemenea, faptul că, în prezenţa antigenului tuberculinic, macrofagele sensibilizate specific sînt imobilizate şi dau mase dense de agregate (David şi colab., 1964), este interpretat ca mecanismul prin care macrofagele histioide se aglomerează la nivelul focarului infecţios, provocînd aici un microclimat anaerob şi o masivă concentrare de metaboliţi neprielnici dezvoltării micobacteriilor (Păunescu şi colab., 1970—1971).

Este posibil deci ca, în funcţie de sensul şi intensitatea răspunsului celular la stimulul antigenului de hipersensibilitate, mecanismele specifice şi nespecifice de rezistenţă să capete o eficienţă mai mică sau mai mare. Este de asemenea posibil ca limitarea în timp şi ca eficienţă a protecţiei relative conferită de vaccinarea antituberculoasă cu germeni vii să fie datorită tocmai întrepătrunderii celor două laturi ale imunităţii celulare: hipersensibilitatea şi rezistenţa.

Hipersensibilitatea celulară este neîndoielnic cea care contribuie direct, prin intermediul limfocitelor efectoare, la asigurarea specificităţi, imunologice a conflictului dintre organism şi antigen. Rezistenţa celulară, prin faptul că se realizează prin intermediul macrofagelor, are implicit o specificitate imunologică redusă. De aceea, colaborarea limfocit-macrofag poate asigura, în cazul infecţiilor cu germeni intracelulari, o creştere importantă a specificităţii de reacţie a macrofagelor şi, astfel, o intensificare a specificităţii imunitare a rezistenţei celulare. În acelaşi sens pledează mai multe date şi argumente prezentate de către Mackaness (1968), Dannenberg (1968) şi alţii.

Cooperarea limfocit-macrofag în reacţiile de hipersensibilitate întîrziată are loc cu precădere la nivelul focarului inflamator al procesului tumoral, al grefonului etc. (Rosenstreich şi colab., 1971) şi are ca urmare creşterea activităţii macrofagului. Limfocitele provenite de la organismele imunizate specific sînt capabile să crească activitatea bactericidă (Mc Gregor şi colab., 1971; Simon şi Sheagren, 1971), antitumorală

Scanned with OKEN Scanner

(Oppenheim şi colab., 1970), antivirală (Tompkins şi colab., 1970) a macrofagelor.

Eficienţa largă a mecanismelor de rezistenţă celulară, spre deosebire de specificitatea strictă a rezistenţei prin anticorpi circulanţi este ilustrată şi de faptul că, pentru creşterea rezistenţei la boli cu etiologie foarte variată, a fost preconizată utilizarea vaccinurilor ce stimulează imunitatea mediată celular. Acesta este şi cazul neoplaziilor, pentru prevenirea cărora s-a preconizat vaccinarea cu anumite fracţiuni micobacteriene (Weiss şi colab., 1964) sau direct cu celule de bacili ai tuberculozei (Zbor şi colab., 1972).

Ideea de a utiliza stimularea capacităţii de răspuns imunologic la măsurile de prevenire a proceselor neoplazice derivă direct din *„conceptul de imunosupraveghere"*,

Teoria supravegherii imunologice, propusă iniţial de către Thomas (1959), a fost recent dezvoltată de către Burnet (1970), şi are la bază rezultatele mai multor linii de cercetare, din domenii diferite. Astfel, studiile imunologice asupra diferenţierii celulare şi alogrefelor au arătat că anumite structuri de la suprafaţa celulelor constituie determinanţi antigenici: pe seama lor, un organism poate recunoaşte celula respectivă ca fiindu-i proprie sau străină; prin reacţii imunitare, organismul poate distruge şi îndepărta celulele pe care le-a identificat ca fiind *nonself*.

Cercetările de genetică somatică au putut demonstra că, în organism, în cursul multiplicărilor celulare normale, pot apare mutaţii ale genelor structurale, dintre care unele pot imprima caractere oncogene. Aceste celule oncogene prezintă însă şi determinanţi antigenici străini, ceea ce face ca sistemul imunitar normal să le depisteze ca *nonself* şi să le elimine.

În sfîrşit, studiile de epidemiologie a cancerului au arătat o creştere importantă a incidenţei neoplaziilor asociată atît cu bolile de deficienţă imună, cu timectomia şi imunosupresia, cît şi cu vîrstele la care răspunsul imun este slab.

Pornind de la aceste date, conceptul de imunosupraveghere postulează că, prin procese de recunoaştere şi reacţie imună, organismul normal poate depista şi neutraliza orice celulă *nonself* apărută, inclusiv cele tumorigene; în stările de deficienţă imună, însă, mecanismele de imunosupraveghere fiind alterate, *nonself-ul* nu mai poate fi depistat şi neutralizat; în cazul particular al celulelor oncogene devine posibilă dezvoltarea şi multiplicarea lor explozivă.

În felul acesta rezultă că a asigura organismului în mod continuu (la toate vîrstele) o capacitate activă de răspuns imun înseamnă a crea condiţii indispensabile pentru prevenirea dezvoltării proceselor infecţioase, oncogene etc.

G. HIPERSENSIBILITATEA NESPECIFICĂ DE TIP SANARELLI-SHWARTZMAN

În 1924, într-un studiu asupra patogeniei holerei, Sanarelli semnalează că reinocularea germenului pe cale intravenoasă, la iepuri, poate duce uneori la moartea foarte rapidă a animalului, chiar dacă doza infectată era mult inferioară dozei letale. Reluînd cercetările, Sanarelli constată că,

dacă iniţial vibrionul holeric este inoculat pe cale intravenoasă, ulterior — după 2, 4 sau 48 de ore — chiar inocularea unui filtrat nepatogen de cultură de colibacili poate provoca moartea animalului. La autopsie se constată o vasodilatare foarte marcată în cavitatea abdominală şi stază venoasă în toate viscerele. Simptomatologia care precede moartea cuprinde o scădere progresivă a temperaturii şi presiunii arteriale, leucopenie foarte marcată şi accese mai mult sau mai puţin intense de convulsii spasmodice.

Complexul de fenomene prezentat de Sanarelli se aseamănă, la prima impresie, cu cele ce caracterizează şocul anafilactic. Ca şi în cazul hipersensibilităţii anafilactice, injecţia intravenoasă a vibrionilor poate fi considerată drept „injecţie preparativă" (sensibilizantă), iar inocularea filtratului de cultură de colibacili drept „injecţie declanşantă". Principala deosebire faţă de şocul anafilactic o constituie însă lipsa de specificitate, între preparatele inoculate preparativ şi cele declanşatoare neexistînd înrudire imunologică. Dealtfel, ulterior s-a dovedit că dacă injecţia preparativă se face, spre exemplu, cu filtrat de cultură de *Shigella dysenteriae*, inocularea declanşantă poate fi făcută fie tot cu filtratul omolog sau cu filtrate înrudite (de salmonele), fie cu alte filtrate de culturi ale unor bacterii neînrudite taxonomic şi imunologic, cum sînt meningococii, *Serratia marcescens* etc. În sfîrşit, studiile recente au demonstrat că activitatea de declanşare a tuturor acestor filtrate bacteriene este datorită conţinutului lor în endotoxine glucido-lipido-polipeptidice, de tipul Boivin şi Mesrobeanu.

Cercetările din ultimile două decenii au arătat că fenomenul de hipersensibilitate nespecifică descris de Sanarelli este mult mai general. Astfel, injecţia sensibilizantă poate fi realizată cu germeni vii sau morţi foarte variaţi (vibrion holeric, salmonele, micobacterii, virus gripal etc.), cu filtratele culturilor acestor germeni, cu diferite extracte celulare bacteriene, sau chiar cu unele substanţe coloidale ca thorotrastul, albastrul de tripan, cărbunele coloidal etc.; inocularea de declanşare a fenomenelor de hipersensibilitate poate fi realizată fie cu endotoxina Boivin-Mesrobeanu, fie cu neurotoxina termolabilă Mesrobeanu (Păunescu şi Mesrobeanu, 1964 — 1965).

Realizarea experimentală a fenomenului descris de Sanarelli se face utilizînd calea intravenoasă atît pentru inocularea preparativă, cît şi pentru cea de declanşare, iar răspunsul obţinut este generalizat, conducînd la moartea animalului. Acest tip de *hipersensibilitate nespecifică* este cunoscut sub numele de *forma generală* (*Sanarelli*).

Între 1928 şi 1937, Shwartzman studiază şi precizează condiţiile de apariţie ale unui fenomen de hipersensibilitate nespecifică similar celui descris de Sanarelli, în care însă injecţia preparativă se face local, pe cale intradermică, şi numai cea declanşantă se realizează pe cale intravenoasă. Astfel, inocularea pe cale intradermică a unui filtrat de cultură bacteriană, urmată a doua zi de inocularea intravenoasă a antigenului declanşator (filtrat de cultură sau endotoxină a germenilor Gram-negativi), face ca — după circa 3 ore de la injecţia declanşantă — să apară la locul primei inoculări o *reacţie hemoragică* urmată de necroză; o asemenea reacţie nu se produce dacă se administrează singure fie numai preparatul sensibilizant, fie numai antigenul declanşator. Acest tip de *hipersensibilitate nespecifică* este cunoscut sub numele de *forma locală* (*Shwartzman*).

Scanned with OKEN Scanner

După cum s-a amintit, caracterul fundamental al tipului Sanarelli-Shwartzman de hipersensibilitate este lipsa de specificitate imunologică. Aceste fenomene nu au la bază un mecanism imunologic obişnuit, nefiind determinate nici de anticorpi circulanţi (ca hipersensibilitatea de tip imediat), nici de celule sensibilizate (ca hipersensibilitatea de tip întîrziat); în acelaşi sens, nici transferul pasiv — prin ser sau celule — al sensibilităţii de tip Sanarelli-Shwartzman nu este posibil. De aceea fenomenele de hipersensibilitate nespecifică prezintă numai forma „activă", prin inducere directă.

H. MECANISMELE DE PRODUCERE A REACŢIILOR DE HIPERSENSIBILITATE NESPECIFICĂ

Cu toate că în procesele de hipersensibilitate de tip Sanarelli-Shwartzman nu se poate atribui un rol reacţiilor cu specificitate imunologică, există totuşi un fenomen comun tuturor acestor manifestări, legat de necesitatea prezenţei unei endotoxine de bacterii Gram-negative în preparatul declanşator, administrat pe cale intravenoasă. Acest fapt obligă la concluzia generică după care fenomenele de sensibilitate nespecifică au la bază procese de sensibilizare a unor celule (leucocite şi, în special, polinucleare) la acţiunea toxică a antigenelor glucido-lipido-polipeptidice.

În condiţiile unei hipersensibilităţi a polinuclearelor faţă de endotoxine, inocularea acestora ar duce la distrugerea masivă a leucocitelor sensibile, fapt care ar realiza liberarea de substanţe vasoactive şi, prin aceasta, contracţia arteriolelor periferice şi a vaselor splanhnice în cazul hipersensibilităţii generale de tip Sanarelli, sau leziuni vasculare locale, cu hemoragie şi necroză, în cazul hipersensibilităţii locale de tip Shwartzman.

O serie de investigaţii efectuate mai recent au adus precizări noi în ceea ce priveşte mecanismele reacţiilor de tip Sanarelli-Shwartzman şi în special în ceea ce priveşte mecanismul efectului endotoxinelor asupra polinuclearelor infiltratului prezent în reacţia locală de hipersensibilitate nespecifică. S-a evidenţiat astfel că structurile subcelulare lizosomale ale polinuclearelor (identice cu granulaţiile neutrofile observabile microscopic în aceste celule) manifestă o sensibilitate particulară la prezenţa endotoxinelor bacteriilor Gram-negative (Weissmann şi Thomas, 1962); sub acţiunea acestor endotoxine, membrana lizcsomală este lezată şi are loc eliberarea enzimelor hidrolitice din interiorul lizosomilor. Sub acţiunea acestor enzime se produce o masivă autoliză celulară, care realizează local fenomenele de hemoragie şi necroză. Dintre enzimele lizosomale, catepsinele sînt responsabile în principal de declanşarea fenomenului Shwartzman.

Thomas (1964) a demonstrat rolul lizosomilor în fiziopatologia reacţiilor Sanarelli-Shawartzman prin utilizarea unei suspensii de lizosomi drept injecţie preparativă în realizarea fenomenului de hipersensibilitate nespecifică locală. Dacă se inoculează aceşti lizosomi intradermic la iepure nu se produce nici o reacţie locală, deoarece enzimele hidrolitice sînt conţinute în interiorul granulelor lizosomale, fiind inactive. Dacă însă, 24 pe ore mai tîrziu se inoculează o endotoxină pe cale intravenoasă la acelaşi

Scanned with OKEN Scanner

animal (injecția declanșatoare), atunci membrana granulelor lizosomale se rupe, enzimele hidrolitice sînt eliberate, țesutul local este supus autolizei, urmate de hemoragie și necroză, rezultînd în final o reacție Shwartzman tipică.

În inducția fenomenului Sanarelli-Shwartzman, inocularea preparativă pare să aibă rolul de a provoca o infiltrație leucocitară (care după cum s-a semnalat, poate fi substituită prin alte reacții inflamatorii, preexistente, cum sînt cele date de intradermoreacțiile pozitive), dar și o activare a acestor leucocite. Pe baza datelor obținute de Cohn și Benson (1965); care constată că pinocitarea unor proteine străine duce la creșterea concentrației de lizosomi în celula fagocitară, se poate considera că acțiunea sensibilizantă a inoculării preparative inițiale constă tocmai în creșterea concentrației particulelor lizosomale în citoplasma celulelor care vor suferi acțiunea ulterioară, declanșatoare, a endotoxinei. Mesrobeanu și colab. (1967) au constatat că endotoxina, factorul responsabil de declanșare a fenomenului Shwartzman, este degradată de leucocitele care o pinocitează. Capacitatea leucocitelor de a degrada acest factor nu este însă dependentă de enzimele lizosomale. Aceste date sugerează existența mai multor mecanisme care concură la dezvoltarea proceselor de hipersensibilitate nespecifică. În același sens trebuie interpretate și rezultatele recente (Andersson și colab., 1972) care au arătat că endotoxinele sînt capabile să activeze transformarea blastică și mitoza în serie a limfocitelor B (cap. 2). În aceste condiții, celulele B liberează o serie de mediatori moleculari, dintre care unii acționează asupra fagocitelor, pe care le „activează" prin procese de intensificare a activităților lizosomale.

BIBLIOGRAFIE

Ada G. L., Transplant. Rev., 1970, *5*, 105.

Allison A. C., Mallucci L., Nature, 1964, *203*, 1 024.

Andersson J., Möller G., Sjöberg O., Eur. J. Immunol., 1972, *2*, 349; Transplant. Rev. 1972, *11*, 131.

Arnason B. G., Waksman B. H., Advanc. Tuberc. Res., 1944, *13*, 1.

Arthus M., Breton M., C. R. Soc. Biol., 1 903, *55*, 1 478.

Aspegren N., Rorsman H., J. Allergy, 1964, *35*, 433.

Benacerraf B., Kabat E. A., J. Immunol., 1950, *64*, 1.

Benacerraf B., Levine B. B., J. exp. Med., 1962, *115*, 1 023.

Benestad H. B., Iversen J., Rolstad B., Scand. J. Haemat., 1971, *8*, 44.

Berken A., Benacerraf B., J. exp. Med., 1966, *123*, 119.

Binet J. L., Mathé G., Nature, 1962, *193*, 992.

Biozzi G., Stiffel C., Halpern B. N., Moutton D., Rev. franç. Immunol., 1972, *10*, 525.

Biozzi G., Stiffel C., Moutton D., Liacopoulos M., Ann. Inst., Pasteur. 1966, *110*, 7.

Bloom B. R., Benett B., Fed. Proc., 1968, *27*, 13; Ann. N. Y. Acad. Sci., 1970, *169*, 258.

Boyd W. C., *Fundamentals of immunology*, Interscience Publ., Inc., New York, 1956.

Boyden S. V., Immunology, 1964, *7*, 474.

Boyden S. V., Sorkin E., Immunology, 1960, *3*, 272.

Burnet F. M., *The clonal selection theory of acquired immunity*, Cambridge Univ. Press, 1959; *Cellular Immunology*, Melbourne Univ. Press și Cambridge Univ. Press, 1969; *Immunologic surveillance*, Pergamon Press, Oxford — Londra — New York — — Toronto — Sydney, 1970.

Chase M. W., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1945, *59*, 134.

Cohn Z. A., Benson B., J. exp. Med., 1965, *121*, 835.

Dale H. H., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1913, *4*, 167.

Dannenberg A. M., Bacteriol. Rev., 1968, *32*, 85.

David J. R., Askari-Al. S., Lawrence H. S., Thomas L., J. Immunol., 1964, *93*, 264.
David J. R., Lawrence H. S., J. Immunol., 1964, *93*, 274.
De Duve V., în *Subcellular Particles* (sub red. T. Hayashi), Ronald Press Co., 1959, p. 128.
Diengdoh J. V., Turk J. L., Nature, 1965, *207*, 1 405.
Donald D., Beck J. S., Nature, 1971, *231*, 183.
Dumonde D. C., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 9.
Elberg S. S., Schneider P., Fong J., J. exp. Med., 1957, *106*, 545.
Fahey J. L., J. Biol. Chem., 1962, *237*, 440.
Favour C. B., Adv. Tuberc. Res., 1951, *2*, 219.
Fishman M., J. exp. Med., 1961, *114*, 837 ; Nature, 1959, *183*, 1 200.
Fong J., J. exp. Med., 1959, *109*, 523 ; 1961, *114*, 75 ; 1962, *115*, 475 ; 1963, *118*, 371 ; 1964, *120*, 885.
Gell P. G. H., Coombs R. R. A., *Clinical aspects of immunology*, Blackwell Sc. Publ., Oxford, 1963.
Gell P. G. H., Silverstein A. M., J. exp. Med., 1962, *115*, 1 037.
Gell P. G. H., Wolstencroft R. A., Brit., Med. Bull., 1967, *23*, 21.
Good R. A., în *Host-parazite relationship in living cell* (sub red. H. M. Felton), C. C. Thomas Publ., Springfield, Ill., 1957, p. 78.
Gowans J. L., McGregor D. D., Cowen D. M., Ford C. E., Nature, 1962, *196*, 651.
Halpern B. N., Jacob M., Binaghi R., Rev. Franç. d'Alergie, 1961, *4*, 201.
Hastie R., Clin. Exp. Immunol., 1971, *8*, 45.
Hinz C. F., Daniel T. M., Baum G. L., Inst. Arch. Allergy, 1970, *39*, 119.
Ishizaka K., Ann. Rev. Med., 1970, *21*, 187.
Ishizaka K., Ishizaka T., Lee R. H., Immunochemitry, 1970, *7*, 687 ; J. Immunol., 1970, *105*, 1 459.
Janis M., Bach F. H., Nature, 1970, *225*, 238.
Janossy G., Greaves M. F., Clin. Exp. Immunol., 1971, *9*, 483.
Jones A. L., Transplantation, 1966, *4*, 337.
Kabat E. A., Benacerraf B., J. Immunol., 1949, *62*, 97.
Kerby G. R., Amer, Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, 904.
Kosunen I. S., Waksman B. H., Flax M. H., Tihen W. S., Immunology, 1963, *6*, 276.
Kretschmer R. R., Perez-Tamayo R., J. Exp. Med., 1962, *116*, 879.
Kuhns W. J., Pappenheimer A. M., J. exp. Med. 1952, *95*, 375.
Landsteiner K., Chase M. W., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1942, *49*, 688.
Lawrence H. S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1949, *71*, 516 ; J. clin. Investing., 1955, *34*, 219.
Lawrence H. S., Landy M., *Mediators of cellular immunity*, Academic Press, New York şi Londra, 1969.
Lawrence H. S., Valentine F. T., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1970, *169*, 269.
Lederer E., în *Immunologisch bedeutsame Mycobacterien-Fraktionen*, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1969, p. 3.
Levy D. A., Osler A. G., J. Immunol., 1966, *97*, 203.
Liacopoulos M., Halpern H. P., Ann. Inst. Pasteur, 1966, *110*, 7.
Lichtenstein L. N., Leviy D. A., Ishizaka K., Immunology, 1970, *19*, 831.
Lichtenstein L. M., Osler A. G., J. exp. Med., 1964, *120*, 507.
Lurie M. B., J. exp. Med., 1942, *75*, 247 ; *Resistance to Tuberculosis*, Harvard Univ. Press, Cambridge, 1964.
Mackaness G. B., J. exp. Med., 1964, *120*, 105 ; Brit. med. Bull., 1967, *23*, 52 ; Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, 337.
Mc Clusky R. T., Benacerraf B., Mc Cluskey J. W., Immunol., 1963, *90*, 466.
Mc Gregor D. C., Koster F. T., Mackaness G. B., J. exp. Med., 1971, *133*, 389 şi 400.
Metalnikov S., Sekreteva V., Ann. Inst. Pasteur, 1927, *41*, 301.
Metsaniotis N., Tsenghi C., J. Pediatr., 1968, *72*, 599.
Mesrobeanu I., Bona C., Vranialici D., Ioanid L., Mesrobeanu L., Z. Immunitatsforsch. All. Klin. Imm., 1967, *133*, 108.
Milier J. F. A. P., în *New concepts in allergology and immunology*, Proc. VII Int. Congr. Allerg., sub red. U. Serafini, Excerpta Medica, Amsterdam, 1971, p. 13 ; Lancet, 1961, *2*, 748.
Miller J. F. A. P., Mitchell G. F., Transplant. Rev., 1969, *1*, 3.
Najarian J. S., Feldman J. D., J. exp. Med., 1961, *114*, 779 ; 1962, *115*, 1 083.
Nelson D. S., *Macrophages in immunity*, North-Holland Publ., Amsterdam, 1968.
Nelson D. S., Boyden S. V., Immunology, 1963, *6*, 264.
Nillson B. S., *Lymphocyte reactivity to PPD tuberculin*, Karolinska Instituted, Stockholm, 1972.

Scanned with OKEN Scanner

Nowell P. C., Cancer Res., 1960, *20*, 462.
Nussenzweig V., Benacerraf B., J. Immunol., 1964, *93*, 1 008.
Oort J., Turk J. L., Brit. J. exp. Pathol., 1965, *46*, 147.
Oppenheim J. J., Fed. Proc., 1968, *27*, 21.
Oppenheim J. J., Leventhal B. G., Hersh E. M., J. Immunol., 1968, *101*, 262.
Oppenheim J. J., Zbar B., Rapp H., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1970, *66*, 1 119.
Oprescu C. C., Gaspar A., Lugojan P. P., Petrovici Al., Arch. Roum. Pathol. Exper. Microbiol., 1972, *31*, 403.
Ovary Z., Benacerraf B., Bloch K. J., J. exp. Med., 1963, *117*, 951.
Parrott D. W. M., De Sousa M. A. B., Nature, 1966, *212*, 1 316.
Păunescu Eug., Ftiziologia, 1957, *6*, 495 ; 1961, *10*, 47 ; 1967, *16*, 481 ; 1968, *17*, 11 ; 1972, *21*, 449.
Păunescu Eug., Georgescu P., Ftiziologia, 1958, *7*, 141.
Păunescu Eug., Hadârca E., Rev. roum. Biochim., 1964, *1*, 183 ; 1965, *2*, 259.
Păunescu Eug., Mesrobeanu L., Probl. tuberculoză, 1964, *5*, 111.
Păunescu Eug., Mușăteanu R., Zaharescu C., Stoinescu M., Dumitrescu-Dănălache M., Pisică G., Probl. tuberculoză, 1972, *11*, 147.
Păunescu Eug., Mușăteanu R., Stoinescu M., Zaharescu C., St. cerc. biochim., 1967, *11*, 279.
Păunescu Eug., Popescu I., Șerbescu A., St. cerc. biochim., 1970, *13*, 69.
Păunescu Eug., Popescu I., Stoinescu M., *Al 2-lea Congres național de microbiologie medicală*, București, 1971, Edit. medicală, p. 163.
Păunescu Eug., Stoinescu M., *7 th International Congress Clin. Chem.*, Geneva, Evian, S. Karger Publ. Basel — New York, 1969, vol. 3, p. 430.
Pearman G., Lycette R. R., Futzgerald P. H., Lancet, 1963, *1*, 637.
Peterson R. D. A., Cooper M. D., Good R. A., Amer. J. Med., 1965, *38*, 579, Etudes Clin. Biol., 1960, *5*, 876.
Pruzansky J. J., Patterson R., Int. Arch. Allergy, Appl. Immunol., 1970, *37*, 98.
Raffel S., Experientia, 1950, *6*, 410 ; Bull. Un. Int. Tuberc., 1960, *30*, 55.
Rauch H. C., Ferraresi R. W., Raffel S., Einstein E. R., J. Immunol., 1969, *102*, 1 431.
Rich A. R., *The Pathogenesis of Tuberculosis*, Ch. C. Thomas Publ., Springfield, Ill., 1944.
Rich A. R., Lewis M. R., Johns Hopk. Med. J., 1932, *50*, 115.
Rocha E. Silva M., *Histamine, its role in anaphilaxis and allergy*, C. C. Thomas, Springfield, Ill., 1955.
Rocklin R. E., Meyers O. L., David J. R., J. Immunol., 1970, *104*, 95.
Rosenstreich D. L., Blake J. T., Rosenthal A. S., J. exp. Biol., 1971, *134*, 1 170.
Sampson D., Archer G. T., Blood, 1967, *39*, 722.
Sanarelli G., Ann. Inst. Pasteur, 1924, *38*, 11.
Shwartzman G., J. exp. Med., 1928, *48*, 247 ; *Phenomenon of local tissue reactivity*, Hoeber Publ., New York, 1937.
Schultz W. H., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1910, *2*, 221.
Spector W. G., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 35.
Schrek R., Amer. Rev. Resp. Dis., 1963, *87*, 734.
Simon H. J., Sheagren J. S., J. exp. Med., 1971, *133*, 137.
Stobo J. D., Rosenthal A. S., Paul W. E., J. Immunol., 1972, *108*, 1.
Sullivan A. L., Grimley P. M., Metzger H., J. exp. Med., 1971, *134*, 1403.
Thomas L., în *Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states* (sub red. S. Lawrence), Cassell Publ. House, Londra, 1959, p. 529 ; Arch. Int. Med., 1958, *101*, 452.
Thomas J. W., Clements D., Grzybowski S., Clin. Exp. Immunol., 1971, *9*, 611.
Thor D. E., Jureziz R. E., Veach S. R., Miller E., Dray S., Nature, 1968, *219*, 755.
Tompkins W. A. F., Zarling J. M., Rawls W. E., Infect. Immunity, 1970, *2*, 783.
Turk J. L., Brit. Med. Bull., 1967, *23*, 3.
Waksman B. H., Ann. Inst. Pasteur, 1963, *105*, 465.
Waksman B. H., Matoltsy M., J. Immunol., 1958, *81*, 220.
Weiss D. W., Bonhag R. S. Parks J. A., J. exp. Med., 1964, *119*, 53.
Zbor B., Bernstein J. B., Barlett G, L., Hanna M. B., Rapp H. G., J. Nat. Cancer Inst., 1972, *49*, 119.

Scanned with OKEN Scanner

8. IMUNITATEA DE TRANSPLANTARE

VL. APĂTEANU şi C. POPOVICI

Fenomenele imune de respingere a grefelor în cursul transplantărilor alogene au fost conturate abia în ultimii 15—20 de ani, de cînd chirurgia de transplantare, în primul rînd cea renală, a luat o mare dezvoltare.

Teoretic, imunitatea de transplantare este un caz particular al imunităţii celulare, fapt care implică tehnici de studiu mult mai dificile decît cele folosite în imunitatea umorală. Imunitatea de transplantare este legată de limfocitele T.

A. INTERRELAŢII GAZDĂ — GREFĂ

Supravieţuirea unei grefe de ţesut sau organ la un receptor este condiţionată de mai multe categorii de factori, printre care: a) starea de viabilitate a ţesuturilor (organelor) în momentul implantării lor la receptor; b) condiţiile chirurgicale relative la sterilitatea intervenţiei şi la stabilirea conexiunilor vasculare; c) relaţiile imunologice dintre grefon şi receptor.

Încă din 1912, la primirea premiului Nobel, Alexis Carrel afirma că autotransplantarea de rinichi la cîine dovedea că „problema tehnică a transplantării de organe este rezolvată" şi că rămîn de soluţionat aspectele imunologice ale transplantării. Chiar şi dificultatea asigurării viabilităţii ţesuturilor pînă în momentul transplantării poate să fie depăşită, prin perfecţionarea metodelor de conservare a ţesuturilor şi organelor. În prezent, bariera imunologică rămîne principalul impediment, deoarece tehnica chirurgicală a devansat posibilităţile de a suprima în mod selectiv apariţia unui răspuns imun nociv pentru grefon (Gowans, 1965).

Orice grefă reprezintă un stimul imunologic pentru receptor; răspunsul imun al receptorului (reacţia „gazdă contra grefă") este variabil, în funcţie de stimulii antigenici ai grefonului şi de capacitatea proprie de răspuns imun. În condiţii speciale, este posibilă şi o reacţie imună a grefei, fapt pentru care vom analiza separat cele două categorii de relaţii 1) reacţia „gazdă contra grefă" şi 2) reacţia „grefă contra gazdă".

1) REACŢIA „GAZDĂ CONTRA GREFĂ"

Capacitatea imunogenă a grefonului. Inducerea unui răspuns imun faţă de antigenele de transplantare, ca şi intensitatea şi rapiditatea instalării sale sînt în funcţie de diferenţele genetice — deci de structura antigenică — dintre primitor şi donator. Acest fapt a fost demonstrat de Medawar (1958) pentru rozătoare. Compararea gradului de supravieţuire

a grefelor de rinichi la om, la gemeni monozigoți (Murray și Harrison, 1963) și la persoane neînrudite a demonstrat rolul incontestabil al diferențelor genetice între receptor și donator.

Din punct de vedere al diferențelor genetice între receptor și donator, grefele de țesuturi sau organe pot fi clasificate (Snell, 1964) în 4 categorii :

a) *Xenografa* este realizată între specii diferite, reprezentînd transplantarea unui organ sau țesut de la un donator la un receptor de altă specie (de exemplu, de la șobolan la șoarece).

b) *Alografa* este realizată în cadrul aceleiași specii, însă între indivizi neînrudiți genetic.

c) *Izografa* este transplantarea de organe sau țesuturi între un donator și un receptor în cadrul aceleiași specii și identici din punct de vedere genetic. O asemenea situație este posibilă, la om, numai în cazul unor transplantări între gemeni monozigoți, ceea ce reprezintă o situație rară. La animalele de experiență pot fi realizate izografe în cadrul unor linii genetic pure de animale (grefe singeneice).

d) *Autografa*, reprezentînd retransplantarea unui țesut autolog, nu pune nici o problemă de ordin imunologic.

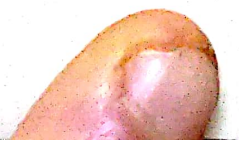
Între aceste 4 categorii de grefă, intensitatea reacției imunologice descrește de la xenografă pînă la autografă.

Cunoașterea naturii răspunsului imun față de un transplant este condiționată de modalitatea de inducere a răspunsului și de modalitatea de reacție a receptorului. Cu alte cuvinte este necesar să cunoaștem antigenul (sau antigenele) care induc răspunsul, precum și modul în care organismul receptorului este „informat" de prezența acestor antigene ; pe de altă parte, este necesar să cunoaștem natura mijloacelor prin care organismul receptorului realizează rejectarea grefei de țesut străin.

În prezent, dispunem de cîteva date de orientare în ceea ce privește capacitatea imunogenă a grefonului (cap. 3), și anume : a) antigenele de histocompatibilitate există pe/în celulele renale, piele și leucocite ; b) fracțiunile subcelulare sînt antigenice ; c) antigenele de histocompatibilitate par să fie insolubile, probabil din cauza asocierii lor cu reticulul endoplasmic ; d) din punct de vedere chimic, aceste antigene par să fie în special glico-lipo-proteine.

Recunoașterea antigenelor grefonului de către organismul receptorului stă la baza reacției ulterioare de rejectare a grefei. Incapacitatea de recunoaștere din partea gazdei permite supraviețuirea grefei fără incidente. Astfel, Medawar (1948) a arătat că homografa (alografa) de piele aplicată pe creier supraviețuiește îndelungat ; Billingham și Boswell (1953) arată că alografa ortotopică de cornee supraviețuiește, în timp ce alografa heterotopică (implantare cutanată) este rejectată ; în 1962, Billingham și Silvers demonstrează supraviețuirea unei alografe de piele în punga jugală de hamster. Întrucît creierul, corneea și punga jugală sînt cunoscute ca fiind lipsite de o circulație activă sanguină și limfatică, s-a tras concluzia că, pentru testarea antigenicității unei alografe trebuie evitate aceste organe, în care nu se realizează contactul direct al grefei cu circulația sanguină a gazdei.

În experimentele cu alografe ortotopice de piele s-a constatat că posibilitatea de transfer adoptiv a sensibilității la alografă pare a fi limi-



tată la celule limfoide obţinute din limfa care drenează ganglionul satelit al grefonului. S-a considerat că antigenele de transplantare ar ajunge de la grefon la ganglionul satelit prin căile limfatice. Limfocitele din acest ganglion ar deveni astfel „activate" (sensibilizate), fapt pus în evidenţă prin transferul adoptiv al imunităţii la animale iniţial tolerante (Billingham, 1954). Transferul adoptiv de imunitate antimicrobiană prin grefă alogenă de măduvă osoasă a fost obţinut şi de noi, la şobolani iradiaţi (Apăteanu, 1966). Aceste limfocite activate pot intra în circulaţia generală, fapt pus în evidenţă de Brent şi colab. (1962), care demonstrează că limfocitele circulante pot transfera rejecţia accelerată a grefei. Mai recent, în 1965, Medawar a emis ipoteza că limfocitele pot „vizita" grefonul pe calea circulaţiei sanguine şi pot „recunoaşte" antigenele grefonului ca străine. Gowans şi colab. (1962) au subliniat rolul limfocitului mic ca principal participant la recunoaşterea antigenelor de transplantare şi la iniţierea secvenţei de evenimente, încă incomplet precizate, care duc la distrugerea grefonului. Autorii au sugerat că limfocitele mici, „informate" la nivelul grefonului, se îndreaptă spre ţesuturile limfoide, unde devin celule pironinofile mari. Ulterior acestea se divid, dînd naştere altor limfocite mici, activate, care sînt eliberate din ganglion în sînge, de unde declanşează procesele de rejecţie a transplantului.

Modalităţi de reacţie a receptorului. În ultimii ani s-au făcut numeroase cercetări experimentale asupra mijloacelor imunologice prin care organismul receptorului rejectează grefonul, în scopul găsirii unor metode eficiente de prevenire a rejectării.

Rejecţia imunologică este posibilă prin intervenţia mai multor factori, singuri sau asociaţi:

a) *Limfocite sensibilizate.* Experimental s-a demonstrat că rejecţia unei alografe de piele se realizează printr-un proces dependent direct de celulele limfoide, similar cu cel din reacţiile de hipersensibilitate întîrziată (cap. 7). S-a constatat că există un strîns paralelism între cele două tipuri de reacţii (rejecţie şi hipersensibilitate întîrziată), atît în ceea ce priveşte manifestările lor clinice, cît şi transferul lor (cap. 7). Cea mai elocventă dovadă a analogiei dintre ele este faptul că ambele pot fi transmise cu ajutorul limfocitelor sensibilizate, inclusiv rejecţia alografei de piele la animale iniţial tolerante (Medawar, 1958). Gowans (1965) demonstrează că limfocitul mic este implicat în reacţia de transplant atît ca agent de recunoaştere, cît şi ca efector al rejecţiei.

b) *Imunoglobulinele serice.* Datele care sugerează rolul anticorpilor umorali în distrugerea alografei au fost analizate de Stetson (1963); în sprijinul acestei idei sînt citate experimente de transfer pasiv al rejecţiei unei alografe de piele cu ser sau cu fragmente de Ig. Rolul anticorpilor circulanţi rămîne încă de demonstrat. Lerner şi Dixon (1967) au decelat la om anticorpi circulanţi, antimembrana bazală glomerulară după scoaterea rinichiului grefat. Aceşti anticorpi au putut fi eluaţi din rinichiul scos.

c) *Alte modalităţi.* Lawrence şi colab. (1960) sugerează că hipersensibilitatea faţă de grefă ar fi transmisă prin intermediul unui *factor de transfer*, dializabil, neantigenic, care se comportă foarte specific. Faptul că acest factor de transfer nu poate induce formarea de anticorpi umorali, sugerează că rejecţia alografei de piele la om are loc numai printr-un mecanism de hipersensibilitate întîrziată, fără intervenţia anticorpilor

Scanned with OKEN Scanner

umorali. Este posibil ca acest factor de transfer să fie un RNA, produs de limfocitele sensibilizate, după cum se deduce din experimentele lui Mannick și Egdahl (1964).

Rolul complementului este încă discutat. Carpenter și colab. (1967) găsesc o variație bifazică a β_1C/β_1A-globulinelor, reprezentînd o creștere a C′ în timpul rejecției, interpretată ca o activare a secvenței de C′ în răspunsul la țesutul lezat. Scăderea ulterioară a C′ este pusă în legătură cu apariția anticorpilor fixatori de C′. Pe de altă parte, se știe din lucrările lui Govaerts (1960) că limfocitele sensibilizate sînt capabile să distrugă celulele-țintă în absența C′, așa încît este posibil ca rolul complementului în rejectarea grefei, chiar dacă există, să nu fie esențial.

Factorii adiționali care pot influența supraviețuirea sau rejecția imunologică a unui grefon pot include și natura legăturii cu gazda, morfologia specială a organului grefat, funcția sa particulară etc.

Grefa de piele este cel mai bun indicator al sensibilizării la celule alogene, din cauza vascularizării sale fine, atît capilare, cît și limfatice. În schimb, rinichiul grefat, avînd legături vasculare mari cu gazda, ar elibera în mod continuu antigene de transplantare în circulația gazdei, ceea ce poate favoriza o desensibilizare. Această idee pare confirmată de datele lui Murray și Harrison (1963), care arată că la un individ cu grefă dublă de rinichi și piele, de la același donator, rinichiul grefat continuă să funcționeze normal, chiar după ce grefa de piele fusese eliminată. Pe de altă parte, este știut că rinichiul, ca grefă, ocupă un loc particular, întrucît grefa de rinichi se practică la indivizi uremici; or, este știut că starea de uremie induce un grad anumit de deficit imunologic (Dammin și colab., 1957).

Lawrence pune problema dacă rejecția alografei este realmente o stare de imunitate dobîndită activ sau este doar rezultatul redeșteptării unei stări latente de izoimunitate. Această ipoteză, deși nu pare plauzibilă, este susținută de reacția foarte promptă a limfocitelor normale la contactul cu antigenul de transplantare atît *in vivo* (testul de transfer de limfocite normale), cît și *in vitro* (testul de culturi mixte de limfocite) (Bain și colab., 1964).

Este de asemenea posibilă o reacție încrucișată față de alografă, determinată de imunizarea receptorului împotriva unor antigene parțiale bacteriene (haptene), care pot avea determinanți antigenici comuni cu antigenele tisulare (Rapaport și Chase, 1964).

Apare evident că reacția la o alografă este un fenomen complex. Această complexitate continuă să se extindă pe măsură ce se acumulează noi observații, așa încît interpretarea ei în prezent trebuie să fie foarte circumspectă.

Un punct de vedere chiar și incomplet asupra fenomenelor care duc la rejecție este însă necesar pentru continuarea cercetărilor asupra prelungirii duratei de supraviețuire a grefelor alogene.

2) REACȚIA „GREFĂ CONTRA GAZDĂ"

În cazul transplantării la un receptor tolerant a unui țesut care conține limfocite imunocompetente (măduvă osoasă, splină etc.) nu mai are loc rejectarea grefonului, ci are loc un răspuns inversat: limfocitele

grefonului recunosc antigenele receptorului ca străine, se sensibilizează faţă de ele şi declanşează o reacţie imună împotriva receptorului. Existenţa acestei reacţii este o dovadă în plus a rolului primordial pe care-l joacă limfocitul în rejectarea unei grefe.

Situaţia caracteristică pentru reacţia „grefă contra gazdă" este aceea a grefei de măduvă osoasă practicată la un receptor iradiat letal, deci în stare de paralizie imunologică. Primele cazuri de transplantare de măduvă osoasă alogenă la om, după iradiere totală accidentală sau terapeutică, au fost comunicate de Mathé şi colab. (1959, 1963). În aceste situaţii, raportul cantitativ dintre celulele în proliferare ale gazdei şi cele ale grefonului se schimbă : singurele celule rapid proliferante sînt cele ale grefei medulare. Dat fiind că această grefă se realizează prin injectarea intravenoasă a unei suspensii de celule medulare, ea este repartizată în spaţiile medulare ale întregului organism primitor. Celulele transplantate se colonizează, proliferează şi ajung să elaboreze anticorpi împotriva celulelor gazdei. Acţiunea acestor anticorpi se manifestă asupra întregului organism al primitorului, realizînd sindromul secundar imunologic sau „boala imună omologă". La animalele cu grefă de măduvă osoasă alogenă, sindromul este caracterizat prin scăderea în greutate, diaree, căderea părului, infecţii, urmate de exitus în interval de 1—2 săptămîni.

La bolnavii cu leucemie acută, grefa alogenă de măduvă osoasă duce la un sindrom secundar imunologic sever, manifestat prin erupţie purpurică generalizată, febră şi infecţii. Doze mici de Imuran, acid epsilon-aminocaproic şi corticosteroizi fac ca acest sindrom să poată fi depăşit, fără sfîrşitul fatal ce se înregistrează la animalele de experienţă. Transplantarea alogenă de măduvă osoasă care nu este urmată de grefă nu duce la sindrom secundar imunologic. Un studiu asupra acestei probleme a fost publicat de Nicolau şi colab. (1963).

Reacţia grefei împotriva gazdei pare deci de o importanţă mai mică decît reacţia majoră prin care gazda respinge grefa. Trebuie ca grefa să fie în mare activitate proliferativă cum e cazul măduvei osoase pentru ca acţiunea ei să capete o amploare care să pericliteze gazda.

B. HISTOCOMPATIBILITATEA

Noţiunea de histocompatibilitate îşi are originea în analogia dintre transfuzia de sînge şi grefele de ţesuturi sau organe; transfuzia este, în fond, o grefă temporară de celule care persistă în organismul receptorului un timp determinat de durata de viaţă a acestor celule în condiţiile unei bune compatibilităţi. În lumina acestei analogii, histocompatibilitatea trebuie înţeleasă drept compatibilitatea dintre sistemul imunologic al gazdei şi ţesutul/ organul grefat.

1) BAZELE GENETICE ALE HISTOCOMPATIBILITĂŢII

În prezent este bine cunoscut polimorfismul genetic în cadrul diferitelor specii animale; acest polimorfism este cu atît mai pronunţat cu cît specia considerată se află pe o treaptă mai evoluată. Este deci de înţeles că, în cadrul speciei umane, polimorfismul genetic va fi extrem de larg

Scanned with OKEN Scanner

şi, în consecinţă, posibilitatea ca doi indivizi să fie identici din punct de vedere antigenic, cu excepţia gemenilor monozigoţi, este foarte redusă.

Existenţa antigenelor tisulare a fost demonstrată încă din 1903, de Uhlenhuth, care a şi creat noţiunile de specificitate de specie şi de organ. În 1928, Witebsky a arătat că serul de iepure antirinichi sau ficat bovin precipită şi cu extracte de alte organe bovine, dar nu precipită cu extracte de organe de la alte specii. Prin aceasta s-a demonstrat existenţa unor antigene comune aproape tuturor organelor (ţesuturilor) unei specii; este însă de observat că aceste studii erau făcute cu antigene extractibile, deci solubile.

Existenţa în ţesuturi a antigenelor şi rolul lor în imunitatea de transplantare a fost demonstrat *in vivo* de Woglom (1928), care a arătat că alogrefele sînt eliminate pe cale imunologică. Aceste studii au fost confirmate ulterior de Gorer şi Medawar, ale căror cercetări au impulsionat investigaţiile în domeniul imunităţii de transplantare.

Antigenele tisulare, numite antigene de histocompatibilitate (sau antigene H), sînt comune aproape tuturor ţesuturilor şi organelor unei specii date, dar distribuţia lor cantitativă în diferitele ţesuturi ale unei specii este variabilă. După datele existente, expresia cantitativă a acestor antigene este, în ordine descrescîndă, următoarea : splină, pulmon, rinichi, ficat, piele, muşchi, creier. Ele sînt intens exprimate şi la nivelul membranei limfocitelor şi trombocitelor în special, precum şi al granulocitelor.

Natura chimică a antigenelor H pare a fi, după Davies şi colab. (1968), glicoproteică.

Antigenele H sînt strict determinate genetic; genele care determină aceste antigene sînt polimorfe, existînd mai multe forme alterne (alele) ale unei gene care ocupă acelaşi locus pe un cromosom. Acest locus poartă denumirea de locus de histocompatibilitate. Numărul de loci este variabil de la o specie la alta. Astfel, s-au descris 15 loci la şoarece (Barnes), 8 la şobolan (Billingham), 4—6 la cobai (Bauer), 4 la hamsterul sirian (Billingham).

La şoarece, expresia locusului principal de histocompatibilitate sub forma de antigene de histocompatibilitate (H_2), este evidenţiabilă şi la nivelul membranei eritrocitare, fapt care a permis studii numeroase, eritrocitele fiind materialul cel mai uşor de obţinut în stare pură. Această situaţie favorabilă studiului a făcut ca şoarecele să devină un model pentru cercetările asupra histocompatibilităţii.

La om, se cunosc în prezent două sisteme majore de antigene de transplantare, independente; primul este sistemul de grup ABO, care este uşor de investigat, antigenele respective fiind exprimate şi în membrana eritrocitului; al doilea sistem, denumit în prezent HL-A, analog sistemului H_2 la şoarece, este exprimat la nivelul membranei leucocitelor şi trombocitelor, dar nu şi al eritrocitelor.

În afara acestor sisteme majore, mai există încă şi alte sisteme antigenice care pot avea efecte nefavorabile în transplantare.

Întrucît sîngele este materialul cel mai accesibil pentru studii, vom prezenta în continuare diferite aspecte ale expresiei genelor de histocompatibilitate la nivelul componentelor sîngelui.

a) *Proteinele plasmatice.* La om, antigenele legate de proteinele plasmatice în general nu deţin un rol important ca antigene de transplan-

Scanned with OKEN Scanner

tare; excepţie face sistemul Lp de β-lipoproteine, care este considerat ca important pentru reuşita transplantărilor, mai ales după ce Berg şi colab. au arătat că un alt sistem antigenic de β-lipoproteine (Ld) este asociat cu unele antigene leucocitare.

b) *Eritrocitul.* Polimorfismul genetic exprimat la nivelul eritrocitului, sub forma antigenelor de grup din diferite sisteme, nu reflectă decît parţial genele de histocompatibilitate. Antigenele din sistemul ABO sînt antigene puternice de transplantare (Dausset şi Rapaport, 1966), fapt explicabil prin însăşi ubicvitatea cunoscută a acestor antigene; există însă şi aici variaţii, în sensul că antigenul A_1 este un antigen mai puternic decît A_2. Dintre celelalte antigene eritrocitare, numai sistemul P pare să deţină rol de antigene de transplantare.

Studiind relaţia dintre funcţia transplantului renal şi compatibilitatea în sistemele eritrocitare dintre receptor şi donator, Gleason şi Murray (1967) constată că incompatibilitatea ABO măreşte semnificativ incidenţa transplantelor renale nefuncţionale. Sistemul Rh nu pare să aibă nici o influenţă asupra funcţiei transplantului, iar sistemul P nu pare să influenţeze funcţia iniţială a transplantului renal, dar scade durata de funcţionare a acestuia, în caz de incompatibilitate. Din aceste date se poate conchide că sistemul ABO reprezintă antigene puternice de transplantare, în timp ce antigenul P este un antigen slab, totuşi important.

c) *Trombocitul* pare să aibă un echipament antigenic foarte apropiat de cel leucocitar, dar dificultăţile tehnice de studiu au limitat investigaţiile; se ştie însă că, în afară de antigene comune cu cele leucocitare, trombocitul posedă şi unele antigene proprii (Ko, Zw).

d) *Leucocitul.* Medawar a atras atenţia în 1946 asupra relaţiei dintre antigenele leucocitare şi cele tisulare, iar Dausset în 1958 a descris primul antigen leucocitar (MAC). Ulterior, Dausset, Van Rood, Payne, Amos şi alţii au arătat că, majoritatea specificităţilor din membrana leucocitelor (în special limfocitul) aparţin unui sistem denumit iniţial Hu-1. Alte cercetări au dus la descrierea unui număr mare de antigene leucocitare aparţinînd acestui sistem; corelaţiile foarte complexe dintre antigenele descrise, precum şi nomenclatura lor diferită de la un autor la altul, au creat mari dificultăţi în sistematizarea cunoştinţelor. Abia în 1968, o comisie de specialişti în cadrul O.M.S. a pus bazele unui sistem de nomenclatură unitar, spre a se evita confuziile generate de existenţa în paralel a unor nomenclaturi diferite. Această comisie a stabilit ca denumirea oficială a acestui sistem să fie HL-A (Histocompatibility locus-A) precizînd şi denumirile pentru 6 specificităţi considerate a fi bine caracterizate: HL-A1, HL-A2, HL-A3, HL-A5, HL-A7, HL-A8.

Bach şi colab. (1967) au apreciat că pe locusul HL-A ar putea exista 15—20 de alele. În prezent, 11 din acestea au căpătat deja denumirea internaţională în cadrul sistemului HL-A; cele 11 specificităţi aparţin la doi subloci; în afara acestora, mai sînt însă descrise şi alte alele, care încă nu sînt suficient de bine caracterizate. Se postulează, de asemenea, existenţa unui al 3-lea sublocus, a cărui identificare este încă nesigură.

Pe lîngă sistemul HL-A este posibil să mai existe şi alte sisteme antigenice tisulare care să intervină în transplantare, dar, deocamdată, existenţa lor nu este dovedită; se ştie însă că la şoarece, pe lîngă sistemul

principal H_2 există şi alte sisteme de antigene de histocompatibilitate. Nu există însă suficiente informaţii pentru a formula ipoteza asupra numărului şi complexităţii sistemelor reziduale la om; studiile clinice arată însă că ele sînt antigene slabe şi pot fi depăşite prin imunosupresive.

În concluzie, pentru a mări şansele de succes ale unei grefe de organ şi pentru a micşora intensitatea terapiei imunosupresoare consecutivă unei grefe alogene, trebuie ca un laborator bine utilat de imunoserologie să posede tehnicitatea şi reactivii necesari pentru cercetarea caracterelor antigenice ale primitorului de grefă şi ale eventualilor donatori.

2) METODE DE TESTARE A HISTOCOMPATIBILITĂŢII

Testarea histocompatibilităţii este o problemă esenţială în practica transplantării de organe/ţesuturi, întrucît este de neconceput în prezent practicarea unui transplant fără a cunoaşte dinainte şansele de supravieţuire a lui în organismul receptorului.

În practică, pentru stabilirea histocompatibilităţii, în clinica umană se pot utiliza două categorii mari de metode: a) determinarea antigenelor HL-A la receptor şi donator, analog determinării grupelor ABO pentru transfuziile de sînge; b) teste de histocompatibilitate, analoge probelor de compatibilitate în transfuzia de sînge.

a) *Determinarea antigenelor HL-A* are la bază existenţa acestor antigene pe leucocite şi trombocite; determinarea concomitentă a specificităţii HL-A la receptor şi donatorii eventuali permite alegerea acelui donator care să nu posede antigene absente la receptor, evitîndu-se astfel imunizarea receptorului împotriva ţesutului grefat. Metodele de lucru se bazează fie pe acţiunea citotoxică a anticorpilor anti HL-A, fie pe fixarea de complement, în special cînd se lucrează cu trombocite.

În practică, determinarea antigenelor HL-A este, indiscutabil, preferabilă, dar aplicarea ei întîmpină încă mari dificultăţi, determinate de mai multe cauze, printre care:

— anticorpii existenţi în prezent sînt, în majoritate, multispecifici; obţinerea unor antiseruri strict monospecifice este o problemă încă greu de soluţionat, întrucît se ştie că imunizările repetate la un individ cu aceleaşi leucocite, duc în final la apariţia de anticorpi cu diferite specificităţi;

— în stadiul actual, leucocitele donatorului nu sînt totdeauna accesibile în timp util;

— seturile de antiseruri existente sînt foarte limitate; ele nu acoperă decît o gamă restrînsă din totalitatea antigenelor leucotisulare.

Din aceste motive, determinarea grupelor leucocitare HL-A la receptori şi donatori nu poate fi aplicată în activitatea curentă de transplantare decît în puţine centre din lume şi, chiar acolo, cu unele limitări inerente.

b) *Testarea histocompatibilităţii*. Au fost descrise, pînă în prezent, diferite modalităţi de a testa histocompatibilitatea între receptor şi donator, dar nici unul dintre testele descrise nu întruneşte criteriile necesare unui test ideal. Aceste criterii, formulate de Brent, sînt următoarele: 1) testul trebuie să excludă donatorul al cărui organ (ţesut) ar provoca

Scanned with OKEN Scanner

un răspuns violent din partea receptorului; 2) să indice donatorul al cărui organ (ţesut) ar fi tolerat cel mai bine; 3) să nu sensibilizeze viitorul receptor; 4) să fie uşor de efectuat şi să aibă un grad mare de discriminare; 5) să nu fie grevat de eventuale stări de deficit imunologic (cum este cazul, de la uremici); 6) să fie aplicabil şi la cadavru, dat fiind că în majoritatea cazurilor organele grefate sînt prelevate de la cadavre.

Testele de histocompatibilitate disponibile în prezent sînt: *teste in vivo* (grefa directă de piele; testul celui de-al treilea om; testul de transfer de limfocite normale; testul de hamster iradiat şi *testul in vitro* (cultura mixtă de limfocite). O analiză critică a acestor teste a fost făcută de Popovici (1971).

C. IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTARE

Se disting două căi de imunosupresie: specifică şi nespecifică. Supresia specifică a reacţiei imune a primit denumirea de *toleranţă imunologică dobîndită* (vezi p. 134). Imunosupresia nespecifică se realizează cu agenţi fizici, agenţi chimici, hormoni etc.

Iradierea totală a corpului cu raze röntgen în doze letale (800—1 000 r) a fost prima metodă de imunosupresie folosită de Mathé şi colab. (1963) pentru condiţionarea bolnavilor de leucemie acută în vederea acceptării unei grefe de măduvă osoasă de la un donator sănătos. Această metodă de imunosupresie are drept consecinţă o gravă deprimare a mecanismelor celulare şi umorale de apărare împotriva infecţiilor atît endogene, cît şi exogene, ceea ce aduce primitorul de grefă în situaţia de „mare invalid imunologic". După iradierea de acest gen, bolnavul trebuie menţinut în camere sterile speciale, sub un tratament intens cu antibiotice, gammaglobuline, concentrate trombocitare etc. Singura indicaţie a acestui mod de imunosupresie este numai în grefele alogene de măduvă osoasă, care au o utilizare foarte limitată.

Iradierea locală cu raze röntgen a fost folosită iniţial în grefele de rinichi (Hamburger şi colab., 1959) cu scopul de a se crea o stare de hiporeactivitate imună în zona în care se grefează rinichiul. Această metodă a fost părăsită, dat fiind că este ineficace din punct de vedere imunologic şi dăunătoare pentru stabilirea conexiunilor vasculare ale rinichiului, grefat cu ţesuturile înconjurătoare iradiate.

Chimioterapia imunodepresivă cu antagonişti ai acidului folic, agenţi alkilanţi sau analogii purinei rămîne în prezent baza medicaţiei imunodepresoare. Printre cele mai folosite substanţe sînt azatioprina (Imuran), ametopterina (Methotrexat), clorambucilul (Cloraminophen), ciclofosfamida (Endoxan) şi actinomicina. Dezavantajele chimioterapiei imunodepresoare constau în efectele sale secundare de deprimare a hematopoezei care limitează atît nivelul dozelor administrate, cît şi durata tratamentului. Totuşi, maniabilitatea unora dintre chimioterapice, cum este Imuranul, este suficient de mare pentru ca să se poată administra discontinuu luni sau ani de zile.

Folosirea *serului antilimfocitar* (SAL), ca adjuvant în terapia imunosupresoare, a fost iniţiată de Woodruff (1960) şi a cîştigat rapid o largă

Scanned with OKEN Scanner

utilizare în ultimul deceniu. În ultimii ani, datorită necesității de a se evita sensibilizările prin cantități mari și repetate de ser animal antilimfocite umane, se folosește un preparat concentrat de globulină antilimfocitară (GAL) obținut prin precipitarea serului brut cu sulfat de amoniu (Starzl, 1964). SAL sau GAL acționează asupra limfocitelor periferice și numai indirect asupra organelor limfoide centrale. În cursul perioadelor de rejecție, se asociază la tratamentul cu GAL sau SAL și prednison în doze de 0,30 — 1,30 mg/kg/zi.

În comparație cu rezultatele foarte bune pe care SAL și GAL le dau la animal, aplicarea lor în clinica umană este o decepție. Această deosebire poate fi explicată de faptul că la om nu se ajunge decît foarte greu la doze comparabile cu cele folosite în experimentele pe animal (Bach, 1970).

Schema de terapie imunosupresivă recomandată de Starzl (1964) și devenită clasică (prednison, azatioprină, GAL și röntgen-terapie locală) include cantități de 5 pînă la 50 de ori mai mici de GAL, decît cele folosite la animal.

Trebuie menționate și unele rezultate de imunosupresie obținute în experimente de transplantare de piele alogenă pe șoareci cu poliribonucleazele izolate de Mowbray, cu asparaginază și fitohemaglutinine.

Ameliorarea certă a unor reacții hemolitice și imunologice și a unor trombopenii imunologice după splenectomie a ocazionat o serie întreagă de experimente pe animal și clinice, pentru împiedicarea rejecției unei grefe alogene de organ, cu ajutorul acestei tehnici chirurgicale. Rezultatele nu sînt suficient de concludente. Păun și colab. (1972) subliniază că, în prezent, nu se poate susține decît rolul ei în prevenirea respingerii transplantelor secundare renale. Nicolau și colab. (1962) au constatat că splenectomia, adăugată la o iradiere subletală, nu deprimă suficient apărarea imunologică a șoarecelui pentru a primi o grefă de măduvă osoasă de la șobolan. Acest experiment, verificat cu metoda evidențierii polinuclearelor fosfatazopozitive de tip șobolan, dovedește rolul neglijabil al splenectomiei în condiționarea pentru primirea unei grefe alogene de măduvă osoasă.

În condiționarea pentru transplantare de rinichi alogen se mai folosește și depleția limfatică, obținută prin canularea ductului toracic pe cale chirurgicală. În acest mod se obține o diminuare a numărului de limfocite circulante și o scădere a reacțiilor imediate de rejecție (Woodruff și Anderson, 1963).

În lucrările experimentale de transplantare de organe sau țesuturi la animale, o metodă de imunodepresie larg aplicată este timectomia, efectuată la animale nou-născute. Pe această cale se intervine asupra însămînțării organelor limfatice cu timocite care antrenează acțiunea de capacitate imunologică a centrilor limfatici. Timectomia deprimă reacțiile imune celulare, dar lasă intactă capacitatea de formare a anticorpilor umorali, cel puțin față de anumiți antigeni.

Hormonii corticosteroizi sînt utilizați ca adjuvant al chimioterapiei imunosupresive, împreună cu SAL sau GAL. În cazul grefei de rinichi alogen, ei se administrează profilactic cu o zi înainte de operație și, apoi, după operație, înainte de a apărea simptomele de rejecție. Doza zilnică

Scanned with OKEN Scanner

de prednison, recomandată de Starzl, este între 1 şi 3 mg/kg în cursul perioadelor de apariţie a fenomenelor de rejecţie şi de 0,2—0,3 mg/kg după aceste perioade.

Penn şi colaboratorii semnalează recent în literatura de specialitate procentul surprinzător de mare de pacienţi supuşi imunosupresiei care au dezvoltat o boală canceroasă ; statistica făcută indică o incidenţă de cancer de 200 ori mai mare la aceşti bolnavi în comparaţie cu populaţia sănătoasă. Această situaţie, adăugată la instalarea rezistenţei faţă de agenţii chimioterapici, la riscurile de aplazie medulară şi la sindroamele hemoragice prin trombopenie sau reacţiile alergice după SAL sau GAL, fac să se îndrepte majoritatea speranţelor cercetărilor actuale către instalarea toleranţei imunologice la adult cu antigene de transplantare purificate.

D. TOLERANŢA IMUNOLOGICĂ DE TRANSPLANTARE

Rezultatele comunicate de Billingham şi colab. (1953) au arătat posibilitatea creării la şoareci a unei toleranţe imunologice faţă de grefe de la o rasă alogenă, prin injectarea de celule viabile de la donatori la primitorii aflaţi în perioada embrionară sau neonatală. Experimente de acest gen au fost reproduse şi în ţara noastră de Grigoriu şi colab. (1964), care au reuşit menţinerea unor grefe alogene de piele timp de peste 20 de zile, la şoareci $C_{57}Bl$ făcuţi toleranţi în perioada neonatală pentru rasa DBAO.

Fenomenul, denumit „toleranţă imunologică dobîndită", are dezavantaje multiple, care împiedică folosirea lui în practica transplantărilor la om. El se realizează cu celule vii, întregi, care sînt un mozaic de antigene, contribuind la complicarea reacţiilor imune ale primitorului şi la apariţia unui sindrom de subdezvoltare şi de consumpţie a animalului căruia i se administrează. Sindromul a fost denumit „runt disease" sau „boala pitică" şi este asemănător, ca simptomatologie şi gravitate, cu „sindromul secundar imunologic" care apare după grefe alogene de ţesut hematopoetic. Un alt dezavantaj al acestui gen de toleranţă imunologică este constituit de faptul că tehnica nu este eficientă decît după administrarea embrionară sau neonatală. În grefele de organ la oameni adulţi nu se poate realiza o toleranţă la celule întregi. Organismul adult reacţionează violent prin imunizare şi rejecţie, nu prin toleranţă faţă de un astfel de mozaic antigenic.

La organismul adult nu se poate încerca crearea unei toleranţe imunologice dobîndite decît cu antigene de transplantare purificate.

Cercetările lui Davies asupra structurii chimice a antigenelor de transplantare din sistemul de histocompatibilitate la om (HL—A) au arătat că aceste antigene se pot izola în stare pură şi se pot solubiliza, condiţie esenţială pentru utilizarea lor în obţinerea toleranţei. Ele sînt glicoproteine, cu G.M. 50 000 şi o mare stabilitate la conservare (cel puţin 2 ani ele pot fi păstrate fără o scădere a activităţii). Cu aceste antigene purificate se poate realiza, la adult, condiţionarea specifică a primitorului de grefă.

Scanned with OKEN Scanner

În prezent, se consideră că producerea toleranței imunologice cu doze mari sau mici și repetate de antigene de transplantare purificate, este calea cea mai promițătoare în chirurgia de transplantare.

În principiu, există două modalități în care se pot folosi antigenele purificate: a) doze de antigen mult mai mari decît cele necesare pentru a imuniza, b) doze prea mici pentru a imuniza și administrate repetat (Fahey).

Pentru schema de administrare masivă a antigenului și obținerea unei „paralizii" imunitare prin exces de antigen sînt mici șanse de aplicabilitate, dată fiind dificultatea de preparare a produsului purificat. Atît sursa celulelor folosite la extracție (splina), cît și metoda de extracție în sine nu se pretează la randamente mari. Nu numai cantitatea de antigen interesează în producerea toleranței imunologice la adult, ci și calitatea antigenului.

Numai un antigen *solubil* se poate extrage, concentra, apoi injecta și repartiza corespunzător în organismul primitor. Rezultate bune au fost obținute în ultimii 4 ani, în prepararea antigenelor solubile foarte purificate, cu G.M. între 40 000 și 100 000. Kandutsch a folosit enzime din veninul de cobra pentru solubilizare, iar Nathanson și Davies au folosit ficină și apoi papaină. Cu astfel de antigene, Metzgar și Seigler au făcut încercări de inducere de toleranță. Se apreciază că la gemeni umani care au antigene HL—A identice este ușor de indus toleranța. Ea ar avea rolul de a anula acțiunea de rejecție imunologică lentă datorită antigenelor minore, care diferă chiar și la gemeni. Avantajul evident al toleranței este că ea permite oprirea măsurilor imunosupresive sau reducerea lor la un nivel lipsit de nocivitate.

Administrarea de doze mici de antigen purificat pare să fie calea de elecție, care a dat rezultate în condiționarea șoarecelui pentru o alogrefă de piele. Deocamdată nu există experiențe în aplicarea la om a acestei tehnici, însă specialiștii o consideră speranța principală pentru rezolvarea în viitor a respingerii imunologice a grefelor de organe. Se crede că, fără a elimina necesitatea testării histocompatibilității și alegerii donatorului celui mai compatibil, și fără a renunța la terapia imunodepresoare, toleranța va permite să se scadă dozele de chimioterapie și de SAL. Va permite, de asemenea, să se micșoreze exigențele exagerate față de posibilități pentru o asemănare genetică, pînă la identitate chiar, între donator și primitor (Apăteanu, 1971).

Plecînd de la profilaxia izoimunizării anti-D la gravide Rh negative cu imunoglobulină specifică anti-D, Clarke (1968) emite ipoteza că și în prevenirea rejectării transplantelor alogene se poate folosi gammaglobulină umană antidonator. Acțiunea acesteia ar împiedica formarea de anticorpi împotriva grefei și ar crea astfel o stare de toleranță pe o cale mai fiziologică decît cele cunoscute pînă în prezent.

În legătură cu toleranța imunologică legată de sex, amintim că antigenul suplimentar, existent pe cromosomul 4 la animalele mascule, face ca rejecția unui țesut alogen să fie mai rapidă în cazul cînd primitorul este femelă. Costăchel și colab. (1964) au verificat fenomenul Eichwald-Silmser, obținînd procente mai bune de supraviețuire după iradiere letală și grefă izogenă la șoarecii $C_{57}Bl$, dacă donatorii și receptorii erau

de acelaşi sex. Această problemă se găseşte la punctul de contact între imunologie şi genetică şi a fost pe larg tratată de Langerova (1969).

Pe lîngă toleranţa imunologică specifică, se cunoaşte şi fenomenul de *toleranţă imunologică nespecifică*, naturală, pe care o posedă pacienţii suferind de unele afecţiuni cunoscute că implică o scădere a reactivităţii imunologice. În această categorie intră persoanele cu hipogammaglobulinemie congenitală, bolnavi suferind de boala Hodgkin sau maladia Besnier-Boek-Schaumann. Este cunoscut faptul că, la aceşti bolnavi, grefele de piele alogenă sînt tolerate mai mult timp decît la subiecţii normali. Ca o consecinţă a acestei hiporeactivităţi imunologice, în situaţia în care s-ar avea în vedere o grefă la aceste grupe de pacienţi, medicaţia imunodepresoare se poate limita la doze moderate, compatibile cu o administrare îndelungată.

BIBLIOGRAFIE

Apăteanu Vl., Rev. Roum. Med. Int., 1966, *3*, 31—34.

Apăteanu Vl., Documenta Haematologica, 1971, *1*, 9.

Bach J. F., *Acquisitions recentes sur les Immunosuppresseurs. Cours international de transplantation*, Edit. SIMEP, Lyon, 1970.

Bach J. F., Albertini R. J., Klosterman H., Day E., *Histocompatibility Testing*, Munksgaard, Copenhaga, 1967, p. 55.

Bain B., Vas M., Lowestein L., Blood, 1964, *23*, 108.

Billingham R. E., Brent L., Medawar P. B., Proc. Roy. Soc. (Biol.), 1954, *143*, 58.

Brent L., Brown J. B., Medawar P. B., Proc. Roy. Soc. (Biol.), 1962, *156*, 187.

Clarke C. A. Lancet, 1968, *2*, 1 — 7.

Costăchel O., Corneci I., Andrian T., Chicoş Gh., Foca N., *Documentar de hematologie şi transfuzie*, Edit. medicală, Bucureşti, 1964, p. 249.

Dammin G. J., Couch N. P., Murray J. E., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, *64*, 967.

Dausset J., Acta Haemat. (Basel), 1958, *20*, 156.

Dausset J., Rapaport F. T., Nature, 1966, *209*, 209.

Davies D. A. L., Immunology, 1966, *XI*, 115

Davies D.A.L., Colombani J., Viza D., Dausset J., *Histocompatibility Testing*, 1968, Munksgard, Amsterdam, p. 287.

Govaerts A., J. Immunol., 1960, *85*, 516.

Gowans L. J., Brit. Med. Bull., 1965, *21*, 106.

Gowans L. J., McGregor D. D., Cowen D. M., Ford C. E., Nature, 1962, *196*, 651.

Grigoriu G., Popovici C., Iercan E., *Documentar de hematologie şi transfuzie*, Edit. medicală, Bucureşti, 1964 p. 237.

Hamburger J., Yasse J., Crosinier J., Tubiana M., Lalanne C., Atoine B., Auvert J., Soulier J. P., Dormont J., Salmon Ch., Maisonnet M., Amiel J. L., Presse méd., 1969, *67*, 177.

Langerova A., *Immunogenetics of tissue transplantation*. Edit. North-Holland Publishing Cie, Amsterdam, Londra, 1969.

Lerner R., Dixon F. J., Exp. Med., 1967, *126*, 6.

Lawrence G. S., Rapaport F. T., Converse J. M., Tillet W. S., J. Clin. Invest 1960, *89*, 185.

Mannick J. A., Egdahl R. H., J. Clin. Invest, 1964, *43*, 2.166.

Mathé G., Amiel J. L., Schwarzenberg L., Cattan A., Schneider M., Brit. Med. J., 1963, *2*, 1.633.

Mathé G., Tammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J., Maupin B. Latarjet R., Larriew M., Kalic D., Djukic Z., Rev. Franç. Et. Clin. Biol. 1959, *4*, 226.

Medawar P. B., Harvey Sect., 1958, *52*, 144

Merrill J. P., Murray J. E., Harrison J. H., Guild W. R., J. Amer. med. Ass. 1956, *160*, 277.

Murray J. E., Harrison J. H., Amer J. Surg., 1963, *105*, 205.

Nicolau C. T., Apăteanu Vl., Grigoriu G., St. şi cerc. med. int., 1962, *5*, 641.

Nicolau C. T., Fotino Merilena, Apăteanu Vl., Med. Int., 1963, *12*, 1.425.

Scanned with OKEN Scanner

PĂUN R., URSEA N., LUCA N., COCULESCU M., LUCA RODICA *Terapia imunosupresivă*, Edit. medicală, București, 1972.
POPOVICI C., Documenta Haematologica, 1971, *1*, 29.
RAPAPORT F. T., CHASE R. M. JR., Science, 1964, *145*, 407.
REVILLARD J. P., BROCHIER J., *Acquisitions récents en imunologie cellulaire. Cours international de transplantation*, Lyon, Edit. SIMEP, Villeurbanne, 1970.
SCHWARTZ R. S., *Immunosuppressive drug therapy in human transplant*, Edit. Grune and Stratton, New York, 1968, p. 440.
SNELL G. D., Transplantation, 1964, *2*, 655.
STARZL T. E., *Experience in renal transplantation*, Edit. Saunders, Philadelphia, 1964.
STETSON C. A., Adv. Immunol., 1963, *3*, 97.
WOODRUFF M. F. A., Proc. Roy. Soc. Med., 1967, *6*, 128 — 130.
WOODRUFF M.F.A., ANDERSON N. F., Nature, 1963, *200*, 702.

Scanned with OKEN Scanner

9. ALTERĂRILE FUNCȚIEI IMUNITĂȚII ȘI BOLILE IMUNOLOGICE

ȘT. BERCEANU

A. INTRODUCERE. ISTORICUL ȘI DELIMITAREA DISCIPLINEI DE IMUNOPATOLOGIE

Cu 15 ani în urmă, o lucrare cu caracter monografic despre patologia imunității ar fi fost prematură și considerată ca o exagerare a tendințelor moderne de supraspecializare în medicină. Din 1955, Grabar și Miescher au inițiat în fiecare an simpozioane asupra patologiei imunității ca specialitate și de atunci au apărut anual volumele binecunoscute de „Immunopathology". Cartea lui Burnet asupra teoriei selecției clonale a imunității dobîndite apărută în 1958, deși este astăzi o monografie de imunologie cu multe ipoteze și probleme teoretice, a deschis căile actuale pentru abordarea domeniilor importante de patologie a imunității. După 1960, literatura mondială s-a îmbogățit cu manuale și tratate de imunopatologie ca cele redactate de Mackay și Burnet (1963), de Gell și Coombs (1963, 1968) și Samter (1971). La noi în țară a apărut „Imunologia și imunopatologia" redactată de un colectiv coordonat de Mesrobeanu și Berceanu (1968).

Încercarea de a contura imunopatologia ca o disciplină cu domenii proprii este acum o necesitate impusă de fapte, care completează o evoluție istorică a fenomenelor și a ideilor în patologia imună. Imunologia experimentală, dezvoltată inițial în cadrul microbiologiei, a recunoscut încă de mult timp (cap. 1) unele reacții la limita proceselor imunologice normale: manifestările anafilactice generale și locale, ca fenomenul Arthus, fenomenul Koch, fenomenul Sanarelli-Schwartzmann. Concomitent, observația clinică a remarcat manifestări asemănătoare cu cele observate la animal. Pe această cale s-au delimitat la început bolile anafilactice și bolile hiperergice, ca domenii noi în patologia bolilor interne.

După introducerea seroterapiei și vaccinoterapiei s-au remarcat accidente (Von Pirquet, 1910), care se produceau ca urmare a aplicării acestor metode de tratament elaborate în cadrul microbiologiei. Studiul bolii serului, început experimental după 1950 (Germuth și colab., 1955), a precizat în special mecanismul leziunilor vasculare provocate de conflictul antigen — anticorp, de circulația complexelor imune, cu sau fără participare de C′.

Încă înainte de 1940 s-au creat baze morfologice, mai ales datorită studiilor lui Rössle și Klinge, pentru caracterizarea leziunilor de hiperergie în țesutul conjunctivo-vascular, noțiunea de hiperergie fiind creată încă de Von Pirquet. Ulterior se delimitează bolile de colagen și în special L.E.D.

Dezvoltarea hematologiei și anume studiul sindroamelor de hemocitopenie prin medicamente au precizat natura alergo-hiperergică a unor

Scanned with OKEN Scanner

anemii hemolitice: trombocitopenii şi leucopenii. Anemia hemolitică a nou-născutului şi icterul nuclear, studiate pe baza incompatibilităţii în cadrul grupului Rh, constituie primul model bine cercetat de boală hemolitică imună (izoimunizare) şi se poate considera ca un început al patologiei imunităţii la om. Mecanismul de autosensibilizare cu punct de plecare în infecţiile microbiene a căpătat o pondere deosebită în patologie prin cunoscutele cercetări ale lui Massugi în nefrita acută, în jur de 1935, şi apoi prin cercetările lui Caveltti în cardita reumatismală streptococică, cercetări realizate imediat după al doilea război mondial.

Conceptul de boală autoimună se delimitează şi se precizează ca mecanism patogenic sigur în cîteva boli numai după 1955, cînd Medawar şi Billingham conturează fenomenele „de rejecţie a grefei" şi noţiunile de histocompatibilitate.

Cercetările de imunologie extinse în cancerologie şi genetică lărgesc sfera funcţiei imunitare şi introduc alături de *componenta imună faţă de nonself*, capacitatea imună înnăscută de *toleranţă faţă de self*.

Patologia imunitară în anii următori a delimitat cele două domenii ale funcţiei imune în sens larg: 1) alterarea reactivităţii imune faţă de nepropriu, antigenele străine; 2) alterarea toleranţei imune faţă de structurile antigenice proprii. Pe această despărţire a compartimentelor în ciclul imunităţii au fost dezvoltate cercetările de delimitare a sindroamelor şi a bolilor imunităţii în clinică şi s-au făcut încercări de reproducere experimentală. Aceasta a fost posibil numai prin înţelegerea integralităţii şi unităţii funcţiilor imune în cadrul *răspunsului imun* şi al *toleranţei imune*. În ultimii ani, cooperarea cercetărilor din domenii diferite de biologie şi patologie au arătat că funcţia imună este o funcţie generală la om şi la toate vertebratele, că are un sistem organizat de ţesuturi şi celule şi că se exercită prin procese de „cooperare" care duc la reacţiile imune de tip celular sau de tip molecular humoral (cap. 2). Există acum suficiente date asupra structurii şi fiziologiei imunităţii, expuse în primele capitole ale acestei cărţi, pentru a se putea aborda patologia imunităţii. Obiectivul important este de a defini şi contura, atît cît este posibil acum, sindroamele şi bolile imunologice ca o consecinţă a dereglării diverselor compartimente structurale, morfologice şi biochimice, congenitale sau dobîndite ale imunităţii.

B. CĂILE DE ALTERARE A RĂSPUNSULUI IMUN ŞI MECANISMUL BOLILOR IMUNOLOGICE

Abordarea unui nou domeniu de patologie, cum apare patologia imunităţii, trebuie făcută după schema clasică a oricărui capitol de patologie: definiţia şi delimitarea, conturarea nosologică a bolii respective, etiologia şi patogenia sa, simptomele clinice ca semne ale alterărilor anatomo-histologice sau ca dereglări ale factorilor humorali.

Etiologia sindroamelor din patologia imună este problema cea mai incertă şi discutabilă la fiecare grupă de boli. Apare sigură în unele boli bine conturate ale imunităţii, ca boala serului, şi altele în care există sigur un antigen faţă de care răspunsul imun este neadecvat sau după o expresie nouă este „degenerat" (Gershon şi Kondo, 1972).

Scanned with OKEN Scanner

Patogenia bolilor imunităţii este componenta cea mai importantă care trebuie analizată în cadrul fiecărei boli, întrucît evoluţia, profilaxia şi terapia posibilă trebuie să ţină seama în cele mai multe cazuri de mecanismul alterărilor patogenice. Orientarea în precizarea unui anumit mecanism patogenic este relevată de urmărirea factorilor participanţi la răspunsul imun (fig. 24).

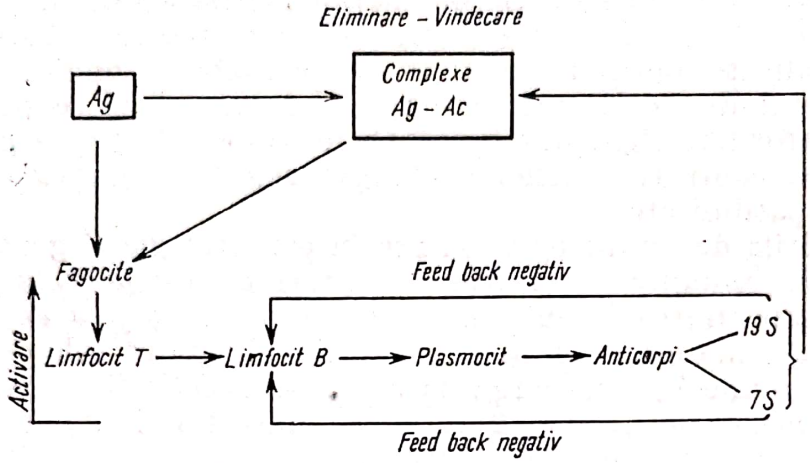


Fig. 24. — Autoreglarea cibernetică a răspunsului imun primar : sursa de antigene străine declanşează secvenţele de reacţii care se închid prin formarea de complexe Ag—Ac ce se vor elimina prin clearance renal sau prin celulele fagocitante retroactivate de limfocitele T sensibilizate.

Sintetizînd datele cunoscute, dereglările patogenice se pot clasifica astfel :

1) Dereglări ale componentelor celulare în funcţia lor dependentă de sistemul care le conferă competenţa imună : dereglări ale celulelor T sau şi B.

2) Dereglări în cooperarea lor şi în cooperarea cu fagocitele.

3) Dereglări ale componentelor moleculare ale răspunsului imun privind sinteza şi durata de viaţă secvenţială echilibrată ale claselor de Ig din sistemul gamma.

4) Dereglări ale componentelor moleculare care efectuează răspunsul imun : sistemul C′, sistemul properdină, privind structura componentelor lor, activarea lor normală în interrelaţia autoreglată prin inhibitorii lor naturali din plasmă.

5) Dereglări în producerea şi *clearance*-ul normal al complexelor imune Ag — Ac, legate sau nu de C′ ; relaţia şi efectul acestora asupra sistemelor de coagulare şi de fibrinoliză.

Raportîndu-ne la schema de bază a răspunsului imun este evident că aceste dereglări denotă modalităţi variate de alterare în desfăşurarea răspunsului imun normal. Cele 5 tipuri de mecanisme patogenice pot să coopereze între ele pentru a determina anumite grupe de boli ale imunităţii (Coombs şi Gell, 1968). Ele se pot urmări în conexiunea lor făcînd posibilă o clasificare patogenică a tuturor bolilor imunităţii.

1) *Dereglări ale componentelor celulare din răspunsul imun.* Urmărind cooperarea ierarhică a componentelor celulare imune, o primă alterare apare la nivel superior, şi anume în zona de inducţie a competen-

ţei imune reactive sau de inducţie a toleranţei imune. În această primă modalitate de alterare sînt condiţionate boli cu patogenie foarte bine stabilită, cum sînt bolile prin deficit imun, legate de alterarea competenţei imune dependentă de Lc T sau de Lc B. Ele constituie grupul de boli disgenetice prin deficit imun, care se împart după alterarea separată a dependenţei imune timice sau bursale sau după asocierea lor în grade variate de intensitate.

Acceptînd anumite ipoteze, mai ales pe baze experimentale, se pot include în acest grup bolile autoimune, prin alterarea sistemului timic. Teoria selecţiei clonale, în înţelesul clasic dat de Burnet, poate totuşi să aducă un sprijin în favoarea dependenţei de sistemul timic. Este foarte probabil ca în cadrul populaţiei de celule timice sau de celule dependente de timus şi migrate în sistemele periferice limfoide să existe clone separate care răspund de toleranţa imună înnăscută. Sînt aşa-zisele „clone interzise" de celule T, a căror mutaţie şi proliferare să determine un răspuns imun anormal cu declanşarea mecanismelor de autoîntreţinere prin autoimunizare. Fenomenele de reacţie încrucişată nespecifică arată o dependenţă de celule T (Gershon şi Kondo, 1972), care poate duce la pierderea de toleranţă printr-un fenomen de inducere a unui răspuns imun faţă de antigene proprii. Haurovitz (1970), susţinînd o specificitate relativă chiar în răspunsul imun normal, întrevede posibilitatea de răspuns faţă de Ag proprii pe baza unei reacţii încrucişate normale, care se exagerează.

Condiţii patologice la om reproduse experimental pot să determine pătrunderea de Ag *nonself* în timus care să inhibe reacţiile imune normale cu formarea de Ac, însă fără răspuns imun eficient (Burnet, 1968). Efectul ultim poate să fie o stare de persistenţă a Ag în organism, perioadă îndelungată, care duce la ruperea toleranţei fie prin trezirea clonelor interzise, fie prin întreţinerea unei stări de hipersensibilitate neeficientă, cu procese de cross-reacţii în care să apară reacţii imune faţă de *self*.

Mecanismele de inducere a reacţiilor autoimune apar astfel pe multe căi însă, se pare că toate determină pînă la urmă o alterare a sistemului de Lc T sau o alterare a cooperării lor cu macrofagele şi cu Lc B.

Efectul Ag îndelung administrate sau persistenţa lor ca Ag Freund a fost folosit ca metodă de rupere a toleranţei şi de determinare a reacţiilor autoimune. Se poate reţine ideea că prin Ag Freund apar condiţii de hiperimunizare care rup circulaţia normală a informaţiei determinată de Ag de-a lungul releului celular pentru răspunsul imun normal: fagocite, Lc T, Lc B. Cercetările lui Christian şi colab. (1965) şi ale lui Weigle (1965) au arătat că, în condiţii de hiperimunizare, prin administrarea periodică şi îndelungată de Ag microbiene, se ajunge la apariţia de autoanticorpi faţă de gammaglobulinele proprii sau de structurile nucleare, cu formare de autoanticorpi de tip factor lupic sau factor reumatoid şi cu leziuni prin complexe imune.

O cale nouă de alterare a răspunsului imun la nivel de cooperare celulară care să creeze condiţii de hiperimunizare şi apoi de rupere a toleranţei asemănătoare cu cea experimentală prin Ag Freund este calea susţinută de Good (1967) şi Mackaness şi colab. (1969, 1970). În experienţe *in vitro*, Mackaness pune în evidenţă fenomenul de activare a macrofagelor prin funcţia Lc T într-un proces de cooperare inversă cu aceste celule, „capcană" de Ag şi de complexe Ag — Ac. În ipoteza lui, Lc T sensibi-

Scanned with OKEN Scanner

lizat joacă un rol deosebit în eficienţa unui ciclu de răspuns imun. În primul rînd poate să explice stările de hiperimunizare cu persistenţa de Ag şi să explice relatările actuale asupra persistenţei de Ag virale şi de complexe Ag—Ac din hepatita activă (Paranetto şi Popper, 1969 ; Mackay, 1971; Blumberg şi colab., 1969), în L.E.D. şi în P.A.N., şi foarte probabil în unele vasculopatii imunoalergice cu evoluţie cronică prin self-perpetuare (Berceanu şi colab., 1965 ; Bruckner şi Berceanu, 1968). Persistenţa Ag şi a complexelor apare în această ipoteză ca un deficit de *clearance* al macrofagelor, consecinţă a deficitului de activare a lor prin Lc T sensibilizat.

2) *Dereglări ale genezei, circulaţiei şi cooperării componentelor imune humorale.* Dereglarea cea mai simplă constă în deficitul de secreţie de Ig anticorpice ca o consecinţă a alterării funcţiilor imune în sistemul de Lc B. Sub diferite tipuri clinico-biologice, aceste tulburări determină bolile prin deficit imun: hipo- sau agammaglobulinemiile — cu scăderea Ac activi de tip IgG, IgM, IgA.

Situaţii mai complexe, cu răsunet clinic şi biologic variat şi de multe ori greu de precizat, sînt dereglările de secreţie a Ig anticorpice, cunoscute sub numele de disgammaglobulinemii. Aceste dereglări în sistemul gamma pot afecta o singură clasă de Ig cu secreţia sa în exces şi cu diminuarea altor clase. Se consideră că gammopatiile monoclonale rezultă prin hipersecreţia unei clase de gammaglobuline, în general prin proliferări maligne, ca în L.l.c. sau în mielom, în macroglobulinemia Waldenström (Osserman şi Franklin, 1964; Waldenström, 1968). Se consideră ca gammopatii policlonale dereglările multiple cu hipersecreţia mai multor clase, consecinţă a proliferării reactive imunoinflamatorie a mai multor clone de celule, Lc şi plasmocite. Termenul de disgammaglobulinemie poate fi interpretat în cadrul gammopatiilor policlonale sau poate fi interpretat într-o clasă aparte de disglobulinemii şi mai complexe.

Alte grupe de dereglări ale factorilor humorali ai imunităţii cuprind mai multe forme de boli determinate de combinaţiile în complexele imune ale Ag şi Ac cu sistemul C′ şi sistemul properdină. Există reacţii imune care fixează C′ şi altele care nu-l fixează. Fixarea sa în complexe înseamnă activarea celor 9 componente cu formarea complexelor Ag — Ac în macroagregate sub forma de Ag. Ac. C′. 5.6.7.8.9. Acţiunea complexelor imune persistente şi în exces devine nocivă şi determină efecte secundare leziionale, chiar dacă desfăşurarea răspunsului imun a fost normală. Aceasta este cauza patogenică a *bolilor alergo-anafilactice.*

Din grupul modificărilor morbide prin complexe Ag — Ac trebuie separate bolile anafilactice prin mediatori chimici de bolile prin complexe Ag—Ac propiu-zise (Dixon şi colab., 1968; Cachrane şi colab., 1971). Se disting aici bolile acute prin complexe imune, ca glomerulonefrita acută, boala serului, cardita reumatismală şi bolile cronice în care se admite o autoîntreţinere prin generarea de complexe imune. Este foarte posibil ca în aceste boli să existe un dificit imun la nivel de Lc în funcţie de activarea macrofagelor, determinînd un deficit în *clearance*-ul de Ag şi de complexe Ag — Ac. Interrelaţia dintre deficitul imun şi stările de autoimunizare prin factori genetici în cooperare cu factorii dobîndiţi sînt argumente pentru o înţelegere unitară a bolilor imunităţii

Scanned with OKEN Scanner

de tip autoimun sau de tip deficitar cu autoîntreţinere. Schema acestei unităţi şi interrelaţii a fost propusă de noi în 1968 şi poate fi susţinută pe baza cercetărilor experimentale ulterioare (Mackaness şi Hill, 1969) şi a unor cercetări clinice (Berceanu şi Gociu, 1972) (fig. 25).

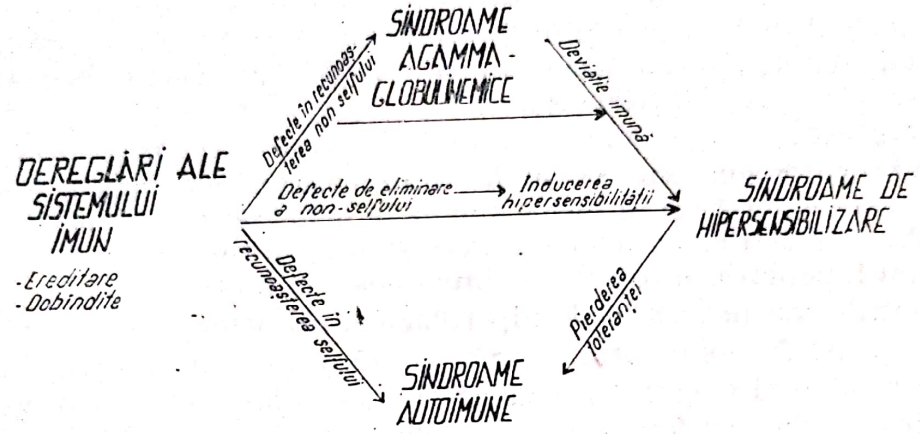


Fig. 25. — Schema unităţii sindroamelor de patologie imună cu posibilităţile lor de intercondiţionare.

C. MORFOLOGIA ŞI MORFOGENEZA LEZIUNILOR IMUNE

Patologia imunitară, concepută unitar prin alterarea funcţiilor de homeostazie imună, implică cercetarea unor caractere comune lezionale care stau la baza tuturor bolilor imunologice. După Coombs şi Gell (1968), termenul de leziuni imunologice nu este corect, întrucît imunitatea nu poate să dea reacţii cu consecinţe patologice. Orice reacţie care se produce în limitele răspunsului imun este o reacţie fiziologică fără consecinţe lezionale, morfologice sau humorale.

După terminologia creată de Von Pirquet, leziunile care apar prin reacţii imune „neadecvate" sînt leziuni alergice şi bolile respective trebuie considerate ca boli alergice. Autorul se referă însă, în primul rînd, la alterările prin reacţii alergo-anafilactice, în general fără caracter de autoimunizare. În grupul respectiv, termenul de leziuni şi boli alergice este corespunzător. Termenul de boli ale imunităţii şi de leziuni ale structurilor şi funcţiilor imune este mai larg, cuprinzînd atît leziunile de hipersensibilizare faţă de *nonself* sau *self*, cît şi pe cele prin deficit imun. Cum relaţia între grupul de boli prin deficit imun şi cele prin hiper- sau autosensibilizare pare destul de strînsă, termenul de leziuni imunologice apare mai complet.

Abordarea leziunilor imune trebuie să aibă în vedere două obiective : 1) să corespundă mecanismelor care le produc ; 2) să constituie mai mult sau mai puţin baza specifică patologică a unei anumite boli imunologice. S-ar putea adăuga conform postulatelor lui Witebsky (1965), posibilitatea de a fi reproduse experimental prin complexul de factori etiopatogenici care le determină, condiţie încă greu de realizat în patologia imunităţii.

O prezentare foarte sintetică a patogenezei leziunilor imune se poate face ţinînd seama de cele două obiective, care pot fi formulate astfel:

1) Leziuni imunologice primare sau secundare ale sistemului imunitar, în organele centrale ale funcţiilor imune (timus şi bursa Fabricius) şi în organele periferice (ganglionul limfatic, măduva, splina),

2) Leziuni imunologice difuze sau localizate, consecinţă a produselor răspunsului imun alterat (fagocite şi macrofage, celule sensibilizate, factorii humorali, Ig, C′, properdină).

1) *Leziunile aparatului imunitar generator al răspunsului imun.* Cercetate în patologia experimentală la animal, leziunile aparatului imun apar bine caracterizate şi în boala umană în urma observaţiilor din ultimii 10 ani. Prezentate din punct de vedere strict morfologic se disting două aspecte: *a*) hipoplazie a celulelor imunologic competente din organele imune centrale sau periferice; *b*) hiperplazie a celulelor imunologic competente care poate fi monomorfă sau polimorfă, după cum este reprezentată de hiperplazia unui singur tip celular (Lc sau plasmocite) sau complexă (cu intricare de limfoplasmocite, celule reticulare, histiomonocite, granulocite).

Legate de mecanismul dereglărilor imune, leziunile de tipul *a* cu hipoplazie sau aplazie limfoplasmocitară sînt caracteristice bolilor prin deficit imun; ele cuprind aplazia primitiv timică, cum se întîlneşte în sindromul Di George unde apare concomitent o hipoplazie a Lc din zonele timico-dependente în ganglioni limfatici şi splină; se disting apoi aplasmocitoza din boala tip Bruton prin lipsă de anticorpi, unde sînt absente plasmocitele din toate ţesuturile, precum şi o depleţie a Lc B din zonele burso-dependente. Tipul *b* de leziuni, cu proliferări selective ale celulelor imunologic competente, se întîlnesc la om în special în organele periferice, ganglion limfatic, splină, aparatul limfoid al tubului digestiv şi mai rar în timus.

Cele două particularităţi semnalate cu leziuni de proliferare monomorfă şi proliferare polimorfă sînt considerate caracteristice pentru bolile imune în general cu hipersecreţie de gammaglobuline. După clasificările cunoscute (Waldenström, Osserman, Franklin), hipersecreţiile sînt de tip gammopatie monoclonală sau gammopatie policlonală. În gammopatiile monoclonale cu hipersecreţia unei singure Ig şi cu scăderea celorlalte se întîlneşte o proliferare tipică monomorfă ca în hiperplaziile maligne ale imunocitelor sau imunoblastelor din limfoamele maligne. În hiperplaziile polimorfe se găseşte o proliferare a tuturor celulelor care intervin în răspunsul imun, predominînd unele din ele. O specificitate lezională pentru anumite tipuri de boli imune este greu de stabilit în studiul organelor limfoide. Infiltraţia granulomatoasă cu bogată eozinofilie, uneori cu plasmocitoză se întîlneşte în stările alergo-anafilactice. O hiperplazie sistematizată de tip limfom gigantofolicular apare uneori în L.E.D. şi alte colagenoze. O proliferare predominant plasmocitară se întîlneşte în disgammaglobulinemii variate şi chiar în P.C.E. activă cu modificări serologice specifice. În P.A.N. se poate întîlni un granulom inflamator complex, cu intricare de Lc, histiocite, plasmocite şi numeroase granulocite eozinofile sau neutrofile, adeseori axate pe vasele capsulare sau în zona hilului. Leziunile sistematizate din L.E.D. din splină au fost semnalate ca patogno-

Scanned with OKEN Scanner

monice prin formaţiunile speciale de „onion skin", însă se ştie că se pot întîlni în mai multe stări hiperimune şi autoimune (Teilum, 1964).

Leziunile de tip proliferativ ale timusului, considerate caracteristice bolii autoimune naturale la şoarecele NZB (Holmes, Burnet), se întîlnesc la om sub formă de tumori timice numai în unele boli autoimune ca miastenia gravis şi rar în alte tipuri reactive.

2) *Leziunile prin alterarea factorilor eficienţi ai răspunsului imun.* Leziunile cele mai mult cercetate şi care constituie baza morfologică din majoritatea bolilor imunologice sînt cele produse prin componentele patologice ale unui răspuns imun alterat. Componentele alterate sînt celulele, fagocite şi macrofage, şi factorii humorali care participă în secvenţa reacţiilor Ig, C′, properdina.

În clasificările din perioada 1963—1967 (Schwartz, 1966; Bendixen, 1966) se făcea o despărţire în două compartimente mari: leziuni prin alterarea reacţiilor imune de tip imediat şi leziuni prin alterarea reacţiilor imune de tip tardiv. Primele erau înglobate în leziunile de tip anafilactic, iar celelalte în leziunile de tip celular. În leziunile anafilactice se disting leziuni anafilactice generale de tip atopic şi leziuni anafilactice locale cu caracteristica angeitei din fenomenul Arthus.

Sub influenţa lui Gell şi Coombs şi a lui Lachman, leziunile imune s-au clasat în 4 grupe, după felul de participare a componentelor imune care determină anumite caractere morfologice. Aceste grupe corespund, în mare, variatelor tipuri de boală imună, însă ele se intrică în grade diferite pentru a caracteriza profilul morfologic al unei anumite boli. Nu se poate distinge însă numai după aceste caractere o boală imună de tip autoimun cu Ag *self*, de una de tip hiperergic cu Ag *nonself*. Leziunile de tip anafilactic rămîn însă caracteristice şi după analiza componentelor lor constituie profilul specific pentru anumite boli.

Leziunile anafilactice de tip atopic sînt cele întîlnite în bolile descrise în capitolul de boli anafilactice şi constau din reacţii vasomotorii, cu permeabilitatea vasculară crescută, edem difuz sau circumscris şi secundar acumulării caracteristice de eozinofile. Se întîlnesc local şi general infiltraţii de mastocite, mai ales în organul de şoc, în adventicia vaselor, dar şi răspîndite difuz în măduva osoasă şi în splină. Degranularea lor cu descărcarea de mediatori chimici constituie un proces constant care însoţeşte reacţiile anafilactice.

Morfologic, leziunile variază după organul de şoc cu modificări care se produc ulterior reacţiilor Ag — Ac şi sînt caracteristice pentru astmul bronşic unde efectul secundar cu edem, hipersecreţie vîscoasă acumulată în lumen, bronhoconstricţie constituie elementul patogenic al crizei obstructive. În aceste leziuni, rolul principal îl joacă Ac speciali, reaginele din clasa IgE, cu mare afinitate de legare pe ţesuturi (cap. 5—7). În general, IgE nu fixează C′, însă în edemul angioneurotic şi urticarie se produce o activare rapidă a primelor fracţiuni C_1, C_2 şi C_4, iar C_3 rămîne nemodificat. S-a arătat că, la majoritatea bolnavilor cu edem angioneurotic atopic există un defect familial al inhibitorului plasmatic de C'_1-esterază. Scăderea aparentă a acestor factori a fost greşit considerată ca o caracteristică humorală a atopiei, în fond aceasta constînd din scăderea inhibitorului C'_1-esterază (Hansen şi colab., 1970; Thorvaldsson, 1969; Rosen şi Austen, 1969).

În afara leziunilor anafilactice prin reaginele de tip IgE, cercetările experimentale arată, în condiţii speciale, fenomene anafilactice cu participarea reaginelor de tip IgG, cu aflux mare de eozinofile, mai ales cînd participa subclasa IgG_1 (Parish, 1972). În participarea reaginelor de tip IgG_2 există o fixare a fracţiunilor C′(5, 6, 7) cu un chimiotactism bogat pentru granulocitele neutrofile (Lachmann, 1968). După cantitatea şi durata de persistenţă a Ag în sînge, eozinofilia, ca şi neutrofilia se produce numai prin diapedeza celulelor circulante sau intervine şi descărcarea din măduvă printr-o mielopoeză exagerată. Posibilitatea ca reacţiile anafilactice să apară şi în reacţiile imune în afara reaginelor de tip IgE arată că tipul I de leziuni se poate întîlni şi în alte dereglări ale răspunsului imun în care intervin reacţiile Ag — Ac şi cu alte tipuri de Ig, fapt recunoscut dealtfel şi de autorii clasificării celor patru tipuri de leziuni.

3) *Leziunile de tip hiperergoanafilactic* apar în clasificarea lui Bendixen ca leziuni de tip Arthus şi sînt considerate unanim ca leziuni tipice prin acţiunea toxică a complexelor imune Ag — Ac-precipitate. În 1971, la *Simpozionul asupra complexelor imune*, de la New York, Kunkel atrage atenţia în cuvîntul de deschidere asupra importanţei şi limitelor rolului patogenic al complexelor imune. Din documentele acestui simpozion se poate spune că grupa de boli considerate ca boli alergo-hiperergice sau alergo-anafilactice, în general cu Ag cunoscute, sînt boli ale „complexelor imune".

În clasificarea lui Gell şi Coombs, leziunile prin complexe imune constituie gradul III de leziuni imune. Din punct de vedere histopatogenic fenomenul Arthus apare la animalul cu sensibilizare generală după injecţie subcutanată de Ag specific sau, invers, la animalul cu Ag în circulaţie la care se injectează o cantitate de Ac specific subcutanat. Participarea componentelor imune în producerea leziunilor este cea mai complexă. Se recunoaşte că leziunea apare prin reacţiile în care participă Ac de tip IgG, IgM şi IgA activi secretaţi în răspunsul imun normal.

Leziunile de tip Arthus care apar în boala serului experimentală sau la om, urmînd fenomenelor generale anafilactice (Germuth, Dixon, Cochrane), se produc în prima perioadă cu exces de antigen şi în ultima perioadă cu exces de Ac. Participarea C′ prin activarea tuturor fracţiunilor sale se consideră constantă în leziunile prin complexe imune. Leziunile se produc în mare parte prin acţiunea C′ care se leagă în complexele cu exces de Ac prin activarea de C'_3. Sînt posibile însă leziuni şi fără fixare de C'_3 în complexe cu exces de Ag (Cochrane, 1971).

Histopatologic, în leziunile din complexele imune se constată aglomerarea de complexe la care se leagă alte elemente din circulaţie sau locale. Complexele formate în circulaţie lezează endoteliile capilare şi astfel pot traversa peretele şi se depun ca depozite de-a lungul membranelor bazale. Concomitent, printr-o secvenţă de reacţii în cascadă, se produc acumulări de trombocite, de granulocite, mai ales neutrofile, şi se activează coagularea prin factorul Hageman. Consecinţa este că sub endoteliul lezat şi în lumenul capilar apare un coagul complex (trombocite, agregate Ag — Ac, C′, fibrină), cu o reacţie de inflamaţie acută în jur. Colorаţiile obişnuite arată prezenţa unui material amorf eozinofil PAS-pozitiv, leziuni de capilarită cu endotelită, iar în jur infiltrat cu leucocite, hematii şi mai tîrziu Lc şi mononucleare de tip histiocitar. Urmărit în fazele de dezvoltare se constată

că la început există un edem şi o umflare a endoteliului şi ţesuturilor subendoteliale, după care urmează inflamaţia acută şi mai tardiv cea limfo-histiocitară cu caractere de reacţie prin hipersensibilizare tardivă. În prima perioadă intervin fenomenele vasomotorii prin mediatorii chimici de tip anafilactic : anafilatoxina, aminele eliberate din plachete cu acţiune chimiotactică pentru granulocite. Procesul studiat prin modele experimentale în condiţii de granulopenie a arătat rolul enzimelor eliberate de lizosomii granulocitelor în urma fagocitării agregatelor imune (Movat, 1968 ; Henson, 1971). Prin aderenţa granulocitelor de complexele imune — C′ se produc o serie de modificări enzimatice care determină activarea lor (Henson, 1971). În această perioadă s-a precizat intervenţia enzimelor lizosomale (beta-glicuronidază, fosfatază acidă), precum şi a L.D.H. S-a precizat dependenţa fenomenelor de imunoaderenţă de fracţiunea C'_3 şi de clasa şi subclasa de Ig. Aderenţa este foarte mare şi de durată lungă pentru IgG şi IgA. Este redusă sau aproape nulă pentru IgM şi IgE care intervine numai secundar după fixarea complementului. Dintre Ac IgG cei mai activi pentru chimiotactism şi aderenţa granulocitelor cu activarea lor sînt subclasele IgG_1 şi IgG_3. Efectele lezionale, degenerative şi inflamatorii, din vasul unde se produce reacţia sînt o consecinţă pe de o parte a trombusului format şi pe de altă parte a enzimelor hidrolaze cu activitate fibrinolitică, eliberată de granulocite. Activarea coagulării cu depunere de fibrină este un proces special cu consecinţă în fenomenele de autoîntreţinere din angiocapilaropatiile alergice cronice.

Din punct de vedere histopatologic, în forma sa trombozantă boala prin complexele imune se leagă de fenomenul Sanarelli-Schwartzman (cap. 7), unde activarea coagulării se produce prin factori toxici direct care determină leziuni capilare locale, activînd astfel coagularea, în general cu inhibiţie de activatori ai fibrinolizei. După Götze şi Müller-Eberhard (1971), sistemul C′ activat poate să declanşeze toate reacţiile din fenomenul Arthus (cap. 7), inclusiv coagularea intravasculară. Aceasta din urmă este activată prin factorul C'_6 în reacţiile cu complexe imune sau pe altă cale. În prima parte a reacţiilor dintre fragmentul Fc al globulinelor (în general IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgM) se activează C'_1, C'_4, C'_2 şi apoi C'_3 — C'_9 cu eliberarea de produse chimiotactice şi anafilatoxină. În alte situaţii, prin Fab se poate produce o activare directă a fragmentului C'_3, mai ales în complexele cu IgA în care declanşarea activării sistemului C′ se face prin sistemul properdină, cum s-a descris la om în anumite forme de nefrite (Vallota, 1970 ; Alper, 1970).

Transpusă în patologia umană, boala complexelor imune prin tipul de leziune caracteristică, prin mecanismele patogenice şi prin analiza imunochimică a componentelor din leziuni, se întîlneşte în majoritatea bolilor imune cu alterări capilare de tip glomerulită membranoasă şi proliferativă. Toată patologia prin angeite necrotizante în care se disting numeroase sindroame imune cu etiologie cunoscută sau necunoscută au ca tablou histopatologic boala de complexe imune. Depinde de o serie întreagă de factori ca natura Ac, gradul lor de afinitate, tipul de Ig pentru ca în structura leziunilor la o analiză imunochimică să apară toate componentele imune sau numai unele.

Problemă specială ridică bolile prin autoimunizare în care nu se cunoaşte bine Ag şi în care se recunoaşte fie o stare de hiperimunizare,

Scanned with OKEN Scanner

fie o stare de autoimunizare. În prima grupă este discutabilă hepatita cronică agresivă, cu probabilă persistenţă de Ag, în cea de a doua, boli ca L.E.D. sau P.A.N. sau alte boli de colagen (Koffler, 1971 ; Locke şi colab., 1971). Descoperirea complexelor imune în circulaţie şi în leziuni, cu structuri simple asemănătoare particulelor virale izolate sau în complexe sînt argumente pentru patogenia prin complexe imune cu Ag virale în unele din aceste boli (Almeida, 1969 ; Blumberg, 1969). Cercetări foarte recente la animale infectate cronic cu virus, cu o stare de viremie permanentă sau intermitentă, au demonstrat existenţa complexelor imune Ac — Ag viral şi rolul lor în patologia imună (Notkins, 1971 ; Dixon şi colab., 1971). Persistenţa Ag virale datorită probabil unui deficit imun de tip celular (Burnet, 1968), ca cel din panencefalita sclerozantă postrujeolică, cu producerea continuă de Ac, dovedeşte pregnant existenţa la om a bolii prin complexe imune virale.

Leziuni imune prin efecte toxice directe ale componentelor imune sînt bine dovedite în cîteva tipuri de boală imună umană, dar mai ales experimentală. Acţiunea toxică prin Ac a fost mult discutată în boala autoimună şi în stările de izoimunizare la om şi la animal, Ig circulante cu caractere de Ac faţă de Ag de organe şi se găsesc frecvent în patologia autoimună, în boli cu caracter de self-perpetuare (Mackay şi Burnet, 1963). Astfel, în bolile hepatice cronice, în bolile renale şi miocardice şi chiar în ateroscleroză (Berceanu şi colab., 1965) apar Ac fixatori de C′ faţă de Ag solubile de organ. Dacă la începutul studiilor asupra patologiei autoimune Ac erau incriminaţi în producerea leziunilor parenchimatoase (Miescher, 1960), în prezent este bine dovedit că nu au o acţiune toxică directă decît în anumite condiţii. Ei apar secundar în cadrul dereglărilor răspunsului imun, uneori prin fenomene de cross-reacţie (Kaplan, 1965), în infecţiile microbiene sau virale sau prin pierderea toleranţei imune în stările de hiperimunizare ; experimental apar la animale în hiperimunizare prin antigen Freund. Efectul lor toxic este posibil numai prin formarea de complexe imune ca în L.E.D. sau în glomerulita membranoasă cu Ac faţă de membranele bazale, unde Ag sînt reprezentate de către însăşi structurile celulare sau tisulare.

Leziunile toxice directe pe celule prin autoanticorpi în patologia umană sînt însă bine dovedite acum şi caracteristice în hemocitopeniile autoimune.

Participarea C′ în producerea leziunilor cu efect hemocitotoxic este de asemenea bine dovedită (Müller-Eberhard, 1968 ; Götze, 1971). S-au precizat de asemenea condiţiile în care C′ se poate activa fără formare de complexe imune, avînd acelaşi efect citotoxic pe membranele celulare (Götze şi Müller-Eberhard, 1971).

Leziuni citotoxice directe prin Ac nu se dovedesc la om în majoritatea cazurilor de boli autoimune. S-a insistat însă mult asupra acţiunii toxice a Ac blocanţi („cell-bound antibodies"). În concepţia originală a lui Boyden şi Sorkin (1962) aceşti Ac îmbracă celulele circulante, mai ales Lc, şi sub această formă legată pot să aibă un efect citotoxic pentru anumite celule şi parenchimuri „ţintă". În această ipoteză, Ac blocanţi se confundă cu efectul citotoxic al Lc sensibilizate în reacţiile imune celulare şi în reacţiile antigrefă. Lawrence (1970) a arătat că sensibilizarea de tip tardiv este condiţionată de „factorul de transfer", care este diferit de Ac blocanţi.

Scanned with OKEN Scanner

Ac blocanți pot fi considerați însă citotoxici după eliberare de Lc secretante în reacțiile *in vitro* și probabil *in vivo* în neuropatiile demielinizante.

Dezvoltarea cercetărilor *in vitro* a adus contribuții sigure pentru efectul citotoxic al autoanticorpilor asupra celulelor. Acțiunea lor se dovedește în testele de citotoxicitate pentru sistemele de histocompatibilitate și în experiențele prin care se dovedesc reacții imune anticorpice față de celulele canceroase.

Efectul citotoxic direct în patologia imună, însoțind în general efectul citotoxic prin Lc sensibilizate, este foarte posibil să intervină *in vivo* în cîteva boli, ca tiroidita autoimună, L.E.D. și azoospermia autoimună. În boala lupică F. L. care produce *in vitro* celula Hargraves printr-un efect antinuclear apare un Ac care poate să atace *in vivo* nuclei, producînd corpii hematoxilinici din leziuni.

În privința modului de acțiune citotoxică a Lc sensibilizate în reacțiile imune, ca cele din rejecție de grefă sau din reacțiile imune anticanceroase, nu există o concluzie unanimă. Deși s-a recunoscut un efect citotoxic letal prin reacție celulă-celulă este mai probabil să apară din acest contact factori mediatori cu efect citotoxic așa cum apar factorul de inhibiție a migrării macrofagelor (Bloom, 1968) și alți factori cu efecte blastogene.

În sistemul nervos central, deși cercetările din ultimii ani par să arate un efect lezional prin Lc sensibilizate, este posibilă o acțiune toxică a Ac cu efect pe fibrele mielinice și poate pe nevroglie (Bornstein, 1966; Waksman, 1965).

Leziunile toxice prin acțiunea directă a Lc sensibilizate par să fie tipul de leziune cel mai frecvent alături de leziunile prin complexe imune. Acțiunea citotoxică autoimună prin Lc constituie ansamblul reacțiilor de „supraveghere imună celulară" în apărarea față de celulele canceroase ca o formă specifică de autoapărare în cadrul fenomenelor de homeostazie imună.

În bolile autoimune se consideră că leziunile de parenchim cu degenerescență celulară ca cele hepatice sînt prin efect citotoxic în reacția Lc sensibilizat — celulă-țintă. De remarcat că, chiar în bolile cu autoanticorpi specifici, ca în L.E.D. și boala Hashimoto, efectul lezional este prin Lc și mai puțin probabil prin Ac. Este însă foarte probabil ca în majoritatea bolilor imune să se intrice leziuni sistemice generale, în special în țesutul conjunctivo-vascular prin complexe imune concomitent cu leziuni prin acțiunea directă pe celulele parenchimatoase a Lc autosensibilizate. Leziunile hepatice cu fenomenul de *peace-meal necrosis* sînt tipul de leziune în care se intrică cele două mecanisme.

În infiltratele inflamatorii perivasculare, în unele infecții virotice se consideră că există de asemenea un mecanism dublu de leziune. Pe structurile perivasculare și probabil pe endotelii, precum și pe histiocite și macrofage se depun particule virale și complexe imune Ac-particule virale. Față de aceste celule îmbrăcate se produce un aflux de Lc mici, sensibilizate, cu efect citotoxic direct față de primele. Este foarte probabil ca în leziunile din sistemul nervos din panencefalita cronică după rujeolă să se petreacă un mecanism asemănător, cu intervenția și a complexelor imune virale (Burnet, 1968). Se explică astfel leziunile din sistemul nervos central

Scanned with OKEN Scanner

cu focare de Lc perivasculare şi unele depozite de complexe imune (Adelman şi colab., 1972).

O leziune prin acţiunea directă a Ac antiţesut a fost semnalată în experienţele cu Ac faţă de structurile ţesutului conjunctiv (Unanue şi Dixon, 1967). După injecţia cu Ag de structuri colagenice izolate şi purificate din stroma diferitelor organe apar Ac specifici care injectaţi la alte animale produc în cîteva ore leziuni sistemice hemoragice şi de coagulare intravasculară. Se consideră că Ac în contact cu structurile antigenice colagene din ţesuturi activează coagularea prin procese asemănătoare celor determinate de complexele Ag — Ac circulante.

D. CLASIFICAREA PATOGENICĂ A BOLILOR IMUNE

După 1966 s-au acumulat cercetări experimentale încercînd mai ales să analizeze mecanismele de pierdere a toleranţei (cap. 5). Merită o atenţie deosebită cercetările lui Gershon şi Kondo (1972), care urmăresc condiţiile de reacţii tolerogene şi dependenţa lor faţă de Lc T.

Prezentarea bolilor imunităţii în perioada 1965—1966 ţinea seama de clasificările elaborate atunci în special de către Mackay şi Burnet (1963), Bendixen (1966), Coombs şi Gell (1968). Pentru boala autoimună un îndreptar preţios şi astăzi este clasificarea patogenetică dată de Waughan în prima ediţie a tratatului de imunologie a lui Samter şi păstrată şi în a doua ediţie. Lachman porneşte de la tipurile de reacţii alergice întîlnite în bolile din clinica umană şi distinge 4 tipuri de reacţii :

Tipul I : leziuni anafilactice, reagino-dependente, care se întîlnesc caracteristic în bolile anafilactice atopice la om, cu modificări vasoactive, consecinţă a eliberării de mediatori chimici în urma reacţiei dintre Ac reaginici şi Ag.

Tipul II : leziuni produse prin acţiunea citotoxică directă a Ac pe membranele celulare sau pe alte structuri tisulare, cu sau fără fixare de C′. Sînt caracteristice leziunile celulare din hemoliza izo- şi autoimună şi reacţiilor prin Ac citotoxici faţă de celule canceroase.

Tipul III : leziuni de sensibilizare imediată reprezentate prin fenomenul Arthus şi care au la bază acţiunea complexelor imune în general cu fixare de C′.

Tipul IV : leziuni reprezentate de toate formele de reacţie de hipersensibilizare tardivă, realizată la om şi la animal prin reacţia la tuberculină şi prin reacţiile de imunitate celulară cu rejecţie de grefă.

Pornind de la aceste tipuri de leziuni, Lachman (1968) după ce face unele consideraţii asupra relaţiei dintre reacţiile imune faţă de nonself şi toleranţa imună faţă de self, clasează bolile imunităţii după mecanismul de leziune din cele 4 tipuri de reacţii.

Ţinînd seama de concepţia unitară a reactivităţii imune ca funcţie a unui sistem bine structurat am propus încă din 1968 o clasificare bazată pe alternarea acestui sistem. De atunci, adîncindu-se cunoştinţele asupra sistemului imun, mai ales prin datele asupra cooperării celulare şi asupra homeostaziei funcţiei imune în concepţia cibernetică, credem că se poate

Scanned with OKEN Scanner

reformula pe baze noi, o clasificare a bolilor imune. Clasificarea pe care o propunem încearcă să respecte următoarele condiţii :

1) Să fie patogenică şi fiziopatologică, fiecare sindrom apărînd ca o anumită tulburare sau o asociere de tulburări ale funcţiilor imunităţii şi structurilor ei.

2) Să ţină seama de leziunile histopatologice şi de alterările humorale ale factorilor imunităţii.

3) Să acopere necesităţile clinice în interpretarea simptomelor, în selectarea metodelor de investigaţii şi în adoptarea unei terapii profilactice şi curative.

4) Să faciliteze interpretarea bolilor imune ca boli primare, congenitale sau dobîndite, sau boli secundare alterării tulburărilor care dereglează sistemul imun.

Se ajunge astfel, la următoarea clasificare :

A. *Boli prin deficit imun* :
   a) prin deficit parţial ↗ deficit de imunitate celulară (sist. Lc T) (tip sindrom Di George)
   a) prin deficit parţial ↘ deficit de imunitate anticorpică (sist. Lc B) (tip agammaglobulinic)
   b) prin deficit global : deficit mixt de alimfocitoză şi agammaglobulinic
B. *Boli prin hiperreactivitate imună* (boala alergo-anafilactică)
   a) boli anafilactice : hipersecreţie reaginică (IgE, IgA)
   b) boli imunohiperergice (boli prin complexe imune)
C. *Boli autoimune* :
   a) prin antigene sechestrate,
   b) boli de colagen,
   c) boli imunohematologice,
   d) neuropatii demielinizante,
   e) dereglări imune în alte boli cronice : cardiopatii, nefropatii, hepatite cronice etc.

E. CARACTERIZAREA PATOGENICĂ A BOLILOR IMUNE

În grupa de boli prin deficit imun, sindroamele apar ca o consecinţă a alterării imunităţii imediate şi separat a imunităţii tardive. Există de asemenea o formă de alterare complexă a imunităţii cu scăderea funcţiilor de producere a Ac şi a imunităţii celulare.

Formele prin alterarea sensibilităţii tardive dependentă de Lc T realizează sindroame cu scăderea apărării faţă de infecţiile virale, fungice şi scăderea reacţiilor faţă de alo-Ag. Este posibil ca acestea să fie facilitate însă de deficitul în sistemul limfocitar T, avînd în vedere funcţia acestora de activare a puterii bactericide. Se cunosc consecinţele persistenţei Ag şi a reacţiilor imune faţă de acestea cu instalarea stării de hiperimunizare. Se remarcă două consecinţe (Berceanu, 1968) : 1) *self*-perpetuarea leziunilor prin complexe imune ; 2) ruperea toleranţei imune faţă de *self* şi apariţia de autoanticorpi faţă de gammaglobulinele proprii sau faţă de structurile celulare modificate citoplasmice şi nucleare. Toate acestea sînt condiţiile

de producere a bolilor autoimune în care leziunile sînt consecinţe ale acţiunii toxice a complexelor imune la care se asociază leziunile prin acţiunea directă citotoxică a autoanticorpilor şi a Lc sensibilizate.

Bolile anafilactogene prin leziuni de tip I îşi găsesc locul lor în clasificarea propusă, mai puţin ca alterări ale răspunsului imun global şi mai ales ca o dereglare humorală cu instabilitate în sistemul C′ ce determină un răspuns anafilactic prin reaginele fixate pe ţesuturi şi prin descărcarea bogată de mediatori chimici.

Bolile prin complexe imune au fost caracterizate anterior atrăgînd atenţia asupra mecanismului lor de producere : 1) boli acute cu complexe imune dependente de durata de persistenţă a Ag şi care se vindecă odată cu eliminarea acestora, ca glomerulonefrita acută difuză, reumatismul poliarticular acut, boala serului, ca tip de boală prin complexe imune ; 2) boli subacute sau cronice cu *self*-perpetuare continuă, cu persistenţa Ag *nonself* sau apariţia Ag-*self* modificate în general prin Ag toxice *nonself* sau însăşi complexe imune Ag — Ac ; 3) self-perpetuare cu producere continuă de complexe imune este una din căile de rupere a toleranţei cu apariţia de boală autoimună, aşa cum s-a arătat, prin argumente clinice şi experimentale.

Bolile autoimune apar însă şi prin alte mecanisme. Este foarte posibil ca la baza lor să existe o determinare genetică cu o toleranţă imună slabă faţă de Ag-*self*. În general se consideră că bolile autoimune au un mecanism necunoscut şi că este greu să fie caracterizate ca boli autonome cu o anumită patogenie. Starea de boală este condiţionată însă nu atît de un anumit Ag, ci de alterările aparatului de răspuns imun care trebuie cercetate după alte criterii patogenice, pe baza cărora se pot clasifica bolile autoimune. Se pot indica şi alte modalităţi de producere a unei boli autoimune, cum ar fi modificările structurale, care pot să „demaşte" sau să facă mai puternic imunogene structuri slab imunogene. Faţă de acestea, organismul are în general o toleranţă slabă aşa încît, după creşterea puterii lor antigenice, pot să apară reacţii autoimune.

Modalităţi mai complexe apar apoi în manifestările autoimune din neoplazii în general şi mai ales în neoplaziile sistemului limfo-reticuloplasmocitar.

Într-o grupă specială de boli anafilactice la om cu IgE sau IgA care funcţionează ca reagine se pot instala condiţii de autoimunizare. Ag sensibilizate, uneori cu funcţie de haptenă, pot determina într-o primă perioadă o reacţie imună anafilactică, care repetîndu-se cu persistenţa de complexe Ag-*nonself* şi Ag-*self* pot să producă reacţii autoimune. Aceste mecanisme vor fi reliefate în hemocitopeniile autoimune şi în unele forme de boli de colagen după sensibilizare la droguri.

Bolile autoimune cele mai caracteristice şi în care rolul toleranţei este cel mai bine reliefat sînt cele prin reacţii faţă de Ag sechestrate anatomic sau faţă de Ag ascunse, aşa cum sînt tiroidita Hashimoto, aspermiile şi poate unele boli demielinizante.

Clasificarea propusă ţine seama de căile de alterare ale răspunsului imun. Pentru grupele 1 şi 2 se ţine seama în mare şi de tipul de leziune imună. În grupul 3 apar mai multe grupe de boli în care mecanismele lezionale pot să aibă o predominanţă diferită sau se pot intrica. De aceea, în gruparea făcută de noi predomină uneori criteriul patogenic, care apare

Scanned with OKEN Scanner

sigur, ca în boli prin Ag sechestrate, alteori criteriul lezional, ca în bolile de colagen. În bolile de sînge, hemocitopeniile autoimune predomină mecanismul de leziune autoimună prin efect citotoxic direct. În alte boli organice cu intricaţii imune am avut în vedere caracterizarea lor clinică după alte criterii de patogenie. Mecanismul de alterare imună apare numai ca unul din modalităţile de self-perpetuare. Caracteristica imună a self-perpetuării este discutată cu consecinţele sale legate de participarea reacţiilor imunitare de tip imediat sau de tip tardiv. În funcţie de existenţa acestora şi de intensitatea penetraţiei lor în componenta lezională tisulară sau humorală se poate susţine un mecanism imun sigur sau numai unul ipotetic.

BIBLIOGRAFIE

Adelman B. C., Kirrane J. A., Glyn L. E., Immunology, 1972, *23*, 723.
Almeida J. D., Waterson A. P., Lancet, 1969, *2*, 983.
Alper C. A., Abranson, N., Johnston R. B., Handl J. H., Rosen F. R., N. Engl. J. Med., 1970, *282*, 349.
Bendixen G., Ann. Int. Med., 1966, *64*, 669.
Berceanu Şt., St. cerc. med. int., 1972, *13*, 3, 207 .
Berceanu Şt., Popescu I. Gr., Gogiu M., în *Volumul omagial al acad. N. Gh. Lupu*, Edit. Academiei, 1965, p. 577.
Berceanu Şt., Gogiu M., Rev. Roum. Méd. Int., 1972, *10*, 75.
Billingham R. E., Silvers W. K., Ann. Rev. Microbiol., 1963, *17*, 531.
Bloom B., Bennett B., Fed. Proc., 1968, *1*, 13.
Blumberg B. S., Friedlaender J. S., Soodside A., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1969, *62*, 1 108 — 1 115.
Bornstein M. B., în *Immunopathology*, 4th International Symposiom, sub red. P. Grabar, P. A. Miescher, Basel, Schwabe, 1966, p. 374.
Boyden S. V., Sorkin E., Immunology, 1962, *5*, 370.
Bruckner I., Berceanu St., St. cerc. med. int., 1968, *9*, 99.
Burnet F. M., *The clonal selection theory of acquired immunity*, The Araham Flexner Lecture of Vauderbilt Univ. Cambridge, 1958.
Burnet F. M., Lancet, 1968, *II*, 60.
Christian Ch. L., Abruzzo J. L., De Simone A. R., Howe E. L. Jr., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 143.
Cochrane Ch. G., J. Exp. Med., 1971, *134*, 75.
Coombs R. R. A., Gell P. G. H., în *Clinical aspects of immunology*, sub red. P. G. H. Gell, R. R. A., Coombs, Blackwell Scientific Publ., Oxford-Edinburg, ed. a 2-a, 1968, p. 575.
Dixon F. J., Vasquez J. J., Weigle W. C., Cochrane C. J., Arch. Path., 1968, *65*, 18.
Dixon F. J., Oldstone M. B. A., Tonietti G., J. Exp. Med., 1971, *134*, 65.
Dumonde D. C., Hawson W. T., Welstencraft R. A., *Immunopathology*, Vth. Symp., 1967, 263.
Franklin E. C., Lowenstein J., Bigolow B., Meltzer M., Ann. J. Med., 1964, *37*, 332.
Gell P. G. H., Coombs R. R. A., în *Clinical aspects of immunology*, Blackwell Scientific Publ., Oxford-Edinburg, 1963.
Germuth G. F. Jr., Page M. G., Tippett J. C., J. Exp. Med., 1955, *101*, 135.
Germuth G.F. Jr., Mc. Kinnon G. E., Bull. Hopkins Hosp., 1957, *101*, 13.
Gershon R. K., Kondo K., Immunology, 1972, **23**, *321*, 335.
Gocke D. J., Hsu K., Morgan C., Bombardieri S., Lockshin M., Christian Ch. L., J. Exp. Med., 1971, *134*, 330.
Good R. A., Hosp. Practice, 1967, *2*, 1.
Götze O., Müller-Eberhard H. J., J. Exp. Med., 1971, *134*, 90.
Gutman G. H., Weissman J. L., Immunology, 1972, *23*, 465.
Hansen D., Arbesman C., Koji Ito, Wieber K., Ann J. Med., 1970, *49*, 23.
Haurowitz F., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1970, *169*, 11.
Henson P. M., J. Exp. Med., 1971, *134*, 114.
Holmes M. C., Burnet F. M., Ann. Internal. Med., 1963, *59*, 265 — 276.

Scanned with OKEN Scanner

KAPLAN M. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *II*, 904.
KOFFLER D., AGNELLO V., THOBURN R., KUNKEL H. G., J. Exp. Med., 1971, *134*, 169.
LACHMANN P. J., în *Clinical aspects of immunology*, sub red. GELL P.G.H., COOMBS R.R.A., ed. a 2-a, Blackwell Scientific Publ., Oxford-Edinburgh, 1968, p. 597.
LAWRENCE H. S., Amer. J. Pathol., 1970, *60*, 437.
MACKANESS G. B., HILL W. C., J. Exp. Med., 1969, *129*, 993.
MACKANESS G. B., BLANDEN R. V., în *Infections agents and host reactions*, sub red. STUART-MUDD W. B., Saunders Company, 1970, p. 22.
MACKAY I. R., în *Immunological Diseases*, sub. red. SAMTER M., ed. a 2-a, 1971, *2*, p. 1 323.
MACKAY I. R., BURNET F. M., în *Autoimune disease*, Charles C. Thomas Publ. Springfield, III, 1963.
MEDAWAR P. B., Proc. Roy. Soc. (Biol.), 1968, *149*, 145.
MESROBEANU I., BERCEANU ST., sub redacţia, *Imunologie şi Imunopatologie*, Edit. medicală, Bucureşti, 1968.
MIESCHER PETER, NORMAN COOPER, BARING BENOCENNAF, Ann. J. Immunol., 1960, *85*, 27.
MILIER J. F. A. P., OSOBA D., Physiol. Rev., 1967, *47*, 437.
MITCHISON N. A., în *Cell Interractions and receptor antibodies in immune responses*, sub. red. O. MÄKELÄ, A. CROSS, T. V. COSUNEN, Acad. Press, Londra, New York, 1971, p. 249.
MOVAT H. Z., URINHARA T., TEICHMAN N. S., ROWSELL H. C., MUSTAND, J. F., Immunology, 1968, *14*, 637.
MÜLLER-EBERHARD H. J., Adv. Immunol., 1968, *8*, 1.
NOSSAL G. J. V., CVNNINGHAM A., MITCHELL G. F., MILLER J. F. A. P., J. Exp. Med., 1968, *128*, 839.
NOTKINS A. L., J. Exp. Med., 1971, **134**, *2*, 41.
OSSERMAN E. F., TAKASUKI KIYOSHI. Ann. J. Med., 1964, *37*, 351.
PARISH W. E., Immunology, 1972, *23*, 19.
PARONETTO F., POPPER H., în *Current problems in immunology*, sub red. WESTPHAL O., BOCK H. E., GRUNDMANN E., Springer Verlag, 1969, 213.
ROSEN F. S., AUSTEN K. F., New Engl. J. Med., 1969, *280*, 1 356.
SAMTER M., *Immunological Diseases*, ed. a 2-a, Little Brown and Company Boston, 1971.
SCHWARTZ R. S., Med. Clin. of North America, 1966, *50*, 1 487.
TEILUM G., Acta Med. Scand., 1964, suppl. 425, *176*, 14.
THORVALDSSON S. E., SEDLACK R. E., GLEICH G. J., RUDDY S. J., Ann. Int. Med., 1969, *71*, 353.
UNANUE E. R., DIXON F. J., Adv. Immunol., 1967, *6*, 1.
VALLOTA E. H., FORRISTAL J., SPITZER R., DAVIS C. D., WET C. D., J. Clin. Invest., 1970, *131*, 1 306.
VAUGHAN J. H., în *Immunological Diseases*, sub. red. SAMTER M., ed. a 2-a. Little Brown and Company, Boston, 1971.
WAKSMAN B. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 299.
WALDENSTRÖM J. G., în *Monoclonal and polyclonal hypergammaglobulinemia. Clinical and biological significance*, Cambridge at the Univ. Press, 1968.
WRIGLE W. O., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 133.
WILSON C. B., DIXON F. J., J. Exp. Med., 1971, *134*, 7.
WITEBSKY E., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, **124**, *2*, 462.

Scanned with OKEN Scanner

10. SINDROAME ŞI BOLI PRIN DEFICIT DE RĂSPUNS IMUN

ŞT. BERCEANU

A. INTRODUCERE ŞI CLASIFICARE

Această grupă de boli se poate defini ca alterări ale funcţiilor de recunoaştere, de reacţie şi de eliminare a structurilor antigenice străine. O interpretare corectă şi cuprinzătoare a lor trebuie să aibă la bază o cunoaştere completă a structurilor şi funcţiilor, componentelor celulare şi humorale ale răspunsului imun.

Cunoaşterea bolilor prin deficit imun s-a făcut treptat, de cînd Bruton (1952) a descris agammaglobulinemia care îi poartă numele şi care constă dintr-un deficit de imunitate humorală determinat de agenezia celulelor imunocompetente de tip B. Descrierea în 1956, de către Good, a unui caz de deficit imun a sistemului celular T care răspunde de imunitatea antivirală a constituit o contribuţie capitală (Burnet, 1968) din punct de vedere teoretic prin care se diferenţiază pe baze clinice cele două tipuri de imunitate.

O clasificare completă a bolilor prin deficit imun este însă foarte dificilă, pentru că alterările diferitelor sisteme imune se pot combina foarte mult şi analiza lor din ce în ce mai aprofundată pune în evidenţă tipuri noi; Soothill (1968) pornind de la 11 parametri imuni ajunge la 4×10^7 combinaţii.

În 1970, comisia OMS, în care intră Seligman şi Good, elaborează o clasificare mai simplă, care separă 14 tipuri de boli prin deficit imun într-o ordine care nu reprezintă o clasificare imunopatogenică, ci o aranjare mai mult după frecvenţa lor în patologie:

1) Agammaglobulinemia infantilă „X-linked".
2) Deficitul selectiv de imunoglobulină.
3) Hipogammaglobulinemia tranzitorie a copilului.
4) Imunodeficitul „X-linked" cu hiper-IgM.
5) Hipoplazia timică (sindromul de buzunare faringiene, sindromul Di George).
6) Limfopenia periodică cu limfocitotoxine.
7) Imunodeficitul cu imunoglobuline normale sau crescute.
8) Imunodeficitul cu ataxie telangectazică.
9) Imunodeficitul cu trombocitopenie şi eczemă (sindromul Wiskott-Aldrich).
10) Imunodeficitul cu timoma.
11) Imunodeficitul cu dwarfism.
12) Imunodeficitul cu hipoplazie hematopoetică generalizată.
13) Imunodeficite severe combinate: a) recisiv autosomal; b) „X-linked"; c) sporadic.
14) Imunodeficite variabile (neclasificabile).

Scanned with OKEN Scanner

Clasificarea patogenică propusă de noi (cap. 9) cuprinde cele două grupe mari : deficite imune ale sistemului timic, globale sau parţiale, şi deficite imune ale sistemului bursal, de asemenea, globale sau parţiale. O a treia grupă o constituie bolile cu deficit imun global prin alterarea atît a sistemului imun timic, cît şi a celui bursal, la care se poate asocia o formă rară cu alterarea însăşi a sistemului celular mielopoetic. În cadrul grupei de deficit al sistemului bursal, alături de tipurile selective bine caracterizate pentru o anumită clasă de Ig, clinica ne obligă, în vederea explorărilor pentru diagnostic, să considerăm ca o clasă aparte diversele asocieri de dereglări în cele 7 clase de disgammaglobulinemii.

O implicaţie specială de care trebuie ţinut seamă în patogenia bolilor prin deficit imun este relaţia lor cu bolile maligne ale sistemului reticulo-limfoid, limfoamele maligne şi bolile autoimune. În grupa de forme secundare, precum şi în grupa disgammaglobulinemiilor aceste relaţii sînt foarte strînse. Multe din formele aparent primitive de deficit imun dobîndit pot să fie secundare unei tumori timice sau unui limfom malign, cărora le urmează sau le pot preceda (Good şi Finstad, 1968).

Relaţiile cu bolile autoimune apar şi mai semnificative, avînd în vedere posibilitatea de boli autoimune cu auto-Ac circulanţi ca L.E.D., P.C.E., A.H.A.I. în cazuri de agammaglobulinemie. Concepţia de cooperare celulară în răspunsul imun, dependenţa în primul rînd de rolul timusului, a competenţei imune pentru sistemele periferice în relaţia Lc T — Lc B şi Lc T macrofag şi menţinerea toleranţei imune îşi găseşte o confirmare în mecanismele patogenice din imunopatologia clinică (Berceanu, 1968, 1972).

În completare la bolile de deficit imun trebuie adăugate bolile prin deficit imun dependente de alterarea funcţiei de fagocitoză şi de bactericidie şi bolile prin alterarea complexului C′ şi a properdinei.

B. AGAMMAGLOBULINEMIA CONGENITALĂ TIP BRUTON

Este denumită şi agammaglobulinemia „X-linked" congenitală, întrucît apare la băieţi cu transmitere ereditară legată de cromosomul X. Nu se cunoaşte precis relaţia dintre alterarea genei de secreţie a gammaglobulinei şi grupul sanguin Xg (a) (Rosen şi colab., 1965), după cum nu se poate determina genetic mama heterozigotă purtătoare a anomaliei cromozomiale. Aşa cum a descris-o prima dată Bruton, în 1952, boala apare la băieţi în al doilea an de viaţă, în primul an existînd în circulaţie încă Ig materne.

Simptomele sînt determinate de deficitul imun de tip imediat : infecţii repetate, mai ales ale căilor respiratorii, ale sinusurilor, precum şi infecţii bronhopulmonare. Există o susceptibilitate mare la infecţii cutanate, la infecţii cu piogeni Gram-negativi şi la *Hemophylus influentiae*. Sînt obişnuite sinuzitele purulente, trenante, furunculoza, pneumoniile, care pot abceda, şi predispoziţia la septicemii şi meningite. Uneori, simptomele apar mai tîrziu şi evoluţia este mai puţin severă, iar prin posibilităţile actuale de tratament deficitul de Ig este compatibil cu o durată lungă de viaţă. Se remarcă însă, din relatările ultimilor ani, că la 1/3 sau la 1/2 din cazuri, chiar înainte de diagnostic, copiii fac boli apropiate de bolile de colagen. La unii predomină semne de P.C.E., prinzînd articulaţiile mari,

Scanned with OKEN Scanner

la alţii semne de dermatomiozită; există şi cazuri cu semne de boală neurologică degenerativă cu evoluţie gravă progresivă. Mai curioase sînt unele manifestări de boală anafilactică cu urticarie, astm bronşic, exeme atopice, sensibilizare la droguri şi chiar A.H.A.I. (Robbins şi colab., 1969). În unele cazuri recent studiate, cu manifestări de P.C.E. cu noduli, s-a precizat că în leziunile de sinovială există focare de Lc care produc mici cantităţi de IgG; nu există însă o scădere a C′ şi nici celule ragiocrine, ceea ce înseamnă că nu se produc complexe imune. Leziunile arteriale cutanate par să fie prin infiltraţie de sensibilizare tardivă şi nu prin complexe, deşi se găsesc mici cantităţi de auto-Ac (Barnett şi colab., 1970).

Investigaţiile imunologice arată alterări morfologice şi humorale ale imunităţii de tip imediat. Sistemul limfoganglionar este hipoplazic, cu amigdale atrofice, cu ganglioni foarte mici deşi există infecţii; de asemenea se remarcă o evidentă atrofie a cercului limfatic Waldayer; umbra timică este însă normală.

Histologic. În ganglionii limfatici, foliculii limfatici sînt absenţi, iar zonele medulare deşi aparent sînt hiperplaziate sînt sărace în Lc şi total lipsite de plasmocite, existînd numai celule reticulare histiocitare care pot fi hiperplaziate, mai ales mai tîrziu. În măduva osoasă, chiar în timpul infecţiilor acute sau după vaccinări nu se găsesc plasmocite. Denumirea de aplasmocitoză este într-un fel sinonimă cu cea de agammaglobulinemie. În sîngele periferic nu se constată nici o modificare, numărul Lc ca şi al granulocitelor fiind normal.

Studiul imunităţii imediate arată scăderea globală a sistemului gamma, în general pînă la 100 mg%. Scăderea pentru clasa IgG este sub 100 mg% şi mai mare pentru IgM şi IgA care nu depăşesc 1% din cifrele normale. Structura lanţurilor de IgG este însă normală atît în componentele K, cît şi în Lambda. Reacţiile imune de tip imediat cercetate după infecţii şi după vaccinările antibacteriene făcute la copil arată o totală lipsă de răspuns: nu cresc Ig, nu apar Ac specifici, nu se produce o sensibilizare cutanată de tip imediat. Reacţia Shick rămîne pozitivă şi după vaccinarea antidifterică. Acest test şi absenţa plasmocitelor în ganglioni şi în măduvă după vaccinare cu anatoxină difterică şi tetanică sînt aproape patognomonice pentru diagnostic. Celelalte sisteme imune humorale, C′, properdina, fagocitoza şi producerea de interferon sînt normale.

Explorările pentru sensibilizarea tardivă sînt negative: testul de transformare blastică la P.H.A. este normal, intradermoreacţia la P.P.D. este normală după vaccinarea BCG; sensibilizarea de tip tardiv se produce normal după aplicarea DNCB. Vaccinările antivirale sînt eficiente şi se produc fără incidente, iar infecţiile virotice eruptive ale copilăriei evoluează normal (rujeolă, varicelă, oreion), deşi în ser apar Ac anti-virali specifici.

Reacţiile de rejecţie a grefei sînt normale atunci cînd s-au efectuat, ceea ce din punct de vedere terapeutic împiedică corectarea deficitului prin grefă de ţesut imun.

Tratamentul se bazează în primul rînd pe substituirea periodică de gammaglobuline, care injectate la timp previn infecţiile şi chiar pot să oprească evoluţia manifestărilor autoimune ca cele asemănătoare bolilor de colagen. Experienţa ultimilor ani recomandă administrarea lunară de 100 mg gammaglobuline (0,6 ml/kg corp) care menţine un titru de Ig

Scanned with OKEN Scanner

peste 200 mg%. Avînd în vedere că timpul de înjumătăţire al Ig este de 30 de zile, o doză triplă administrată în 3 injecţii timp de 24 de ore creşte titrul la 300 mg%. În perioadele de infecţii se vor da antibiotice pînă la vindecare. Administrarea intravenoasă de gammaglobuline standard este total contraindicată, aceşti bolnavi făcînd reacţii grave de intoleranţă. În unele centre s-au preparat gammaglobuline care sînt injectabile şi pe cale intravenoasă după purificări speciale (Janeway şi colab., 1968).

Întrucît preparatele comerciale standard conţin numai IgG (Stiehm şi colab., 1966), cu urme de IgM şi IgA, în unele cazuri cu infecţii grave se recomandă şi administrarea de plasmă totală care conţine şi aceste Ig.

C. ALTE FORME DE TULBURĂRI ÎN SECREŢIA DE ANTICORPI

Dacă forma descrisă de Bruton este bine delimitată imunologic, genetic şi clinic, celelalte forme de scădere a globulinelor din sistemul gamma sînt mai puţin caracteristice şi de aceea sînt descrise ca forme de asocieri diferite. Unele pot fi cu scăderi variabile globale ale tuturor claselor de Ig; altele sînt izolate, „selective", pentru o anumită clasă, celelalte fiind normale (Seligman, 1968; Waldman, 1969; Kay, 1970). Deşi sînt posibile foarte multe asocieri trebuie reţinute cele 7 tipuri de gammaglobulinemii în care există deficite pentru unele clase, creşteri sau cifre normale pentru altele. Cu toate că Seligman şi Good consideră inutilă această grupare, deocamdată este necesar a se admite aceste asocieri.

De remarcat că atît hipo- sau agammaglobulinemiile „selective" pentru un anumit tip, cît şi disgammaglobulinemiile pot să fie congenitale sau dobîndite. Cele mai multe se pot asocia precedînd sau însoţind o boală malignă de sistem limfo-plasmocitar sau o boală autoimună de colagen, tiroidită autoimună, A.H.A.I., trombocitopenie. În prezent se pot contura cîteva grupe relativ bine caracterizate imunologic şi clinic.

Agammaglobulinemia tranzitorie apare în primul an la unii copii de ambele sexe, la care după catabolizarea Ig de la mamă nu s-a stabilit încă secreţia completă de gammaglobuline proprii. În mod normal, la un an maturaţia imună a sistemului de Lc B este aproape completă, producîndu-se mai mult de 75% din cele trei Ig. Sinteza de IgA deşi începe la cîteva săptămîni este completă numai la 2 ani (Stiehm şi Fudenberg, 1966). Infecţiile repetate microbiene respiratorii sau cutanate, lipsa de răspuns imun la vaccinările cu anatoxine în primele 18 luni sînt semne de deficit imun al sistemului gamma care se poate confunda cu cel din agammaglobulinemia tip Bruton. Absenţa antecedentelor genetice şi ameliorarea spontană a simptomelor de deficit imun către vîrsta de 2 ani sugerează caracterul tranzitoriu al deficitului. De semnalat că IgA în această formă tranzitorie nu este scăzută, ci din contra ajunge la un titru normal în primele luni de viaţă.

Prevenirea infecţiilor în perioada de scădere se face cu injecţii de gammaglobuline tot aşa de eficiente ca şi în forma sex-linked Bruton.

Agammaglobulinemiile „selective" cu scădere izolată de IgA sînt greu de diferenţiat de unele tipuri de disgammaglobulinemie în care există deficit de IgA, însă cu unele dereglări ale celorlalte clase, precum şi de unele cazuri de hipogammaglobulinemie primară tardivă. Este acceptată

ca formă aparte (Gatti şi Good, 1972), dar este inclusă între disgammaglobulinemii de către Rosen (1971).

De cele mai multe ori este asociată cu o boală de colagen ca P.C.E. (la 3,4% din cazuri), dar mai ales cu sindromul de ataxie telangectazică în care apare la 60—80% din cazuri. După statistica lui Bachman (1965), scăderile de IgA la o populaţie normală se întîlnesc la mai puţin de 1‰; asocierea scăderilor într-un procentaj mare în grupele de boli citate este semnificativă pentru o relaţie patogenică. Scăderi importante se întîlnesc şi în alte boli autoimune ca L.E.D., tiroidită şi chiar în formele severe de ciroză. O deleţie cromozomială în perechea a 18-a sprijină natura genetică a deficitului de IgA, cel puţin în anumite cazuri cu evoluţie spre boli cronice cu autoîntreţinere. O asociere şi mai caracteristică şi mai frecventă apare în enteropatii de tip non-sprue în care există o aplazie a sistemului plasmocitar de-a lungul tubului digestiv foarte dezvoltat la normali. Bariera intestinală prin sistemul plasmocitar secretor de IgA fiind deficitară la aceşti bolnavi se dezvoltă infecţii permanente care pot să ducă prin cross-reacţii la formarea de Ac şi generarea de boli autoimune.

O altă complicaţie, care apare cam la jumătate din cazurile de hipogammaglobulinemie tardivă cu deficit de IgA, este sindromul asemănător bolii sprue („sprue-like") cu enteropatie de malabsorbţie sau pierdere de proteine; biopsia şi examenul bacteriologic nu arată nimic particular însă s-au descris cazuri cu hipoplazie limfoidă medulară (Hermans şi colab., 1966). Cu toate că s-a dovedit o incidenţă familială, nu se cunoaşte modul de transmisie ereditară (Stocker şi colab., 1968).

Tratamentul care poate ameliora evoluţia complicaţiilor autoimune este administrarea de plasmă proaspătă întrucît nu există preparate de IgA. Se atrage atenţia asupra posibilităţii de formare de Ac anti-IgA omologi, care pot da reacţii mari transfuzionale (Vyas şi colab., 1968).

Hipogammaglobulinemia dobîndită primară (cu debut tardiv) în forma sa completă are caracterul bolii Bruton, numai că apare tîrziu, după vîrsta de 25—30 de ani; a fost descrisă imediat după Bruton. Apare la ambele sexe şi uneori este familială, cu manifestări variate de boli asociate.

Din punct de vedere imunoserologic sînt scăzute toate clasele de Ig şi chiar izo-hemaglutininele naturale. Există o scădere a reacţiilor imune de tip imediat, pe cînd cele tardive sînt în general păstrate. Cu timpul însă, în funcţie de evoluţie, se deprimă şi acestea.

Din punct de vedere clinic, chiar din primele descrieri, s-au semnalat asocieri sau predispoziţii de boli autoimune ca în dermatomiozita, P.C.E., sprue-ul, anemia Biermer, A.H.A.I., purpura trombopenică idiopatică. S-a semnalat, de asemenea, asocierea sau evoluţia spre o limfoproliferare malignă, limfosarcom, leucemie limfatică cronică. Mai tîrziu apar infecţiile, în general sinusale şi pulmonare. Se discută relaţia cu limfoamele din punct de vedere patogenic. Scăderea de gammaglobuline periferice poate să solicite o continuă proliferare în sistemul imun, care apoi să ducă la o malignizare; se poate însă ca această malignizare să fie primară, condiţionînd secundar deficitul în secreţia sistemului gamma. Se admite ca în acest grup mare să existe mai multe subgrupe, unele genetice, altele dobîndite primare sau secundare. Asocierea cu o boală autoimună arată

Scanned with OKEN Scanner

disfuncţia răspunsului imun generală care condiţionează atît deficitul, cît şi scăderea toleranţei.

Investigaţiile imune humorale şi morfologice arată unele caractere distincte de hipogamma tip Bruton. Scăderea Ig este mai moderată, titrul de IgG fiind în jur de 15 mg%, însă cu o scădere a subclaselor (Hong şi Good, 1967). Clasele de IgM şi IgA sînt scăzute, însă totdeauna prezente. Există caractere histopatologice mai particulare, organele limfoide, splina, ganglionii limfatici, amigdalele fiind în general hiperplaziate. S-au descris chiar cazuri cu hepatosplenomegalie şi hipersplenism, care pot fi familiale, predominînd la fete tinere (Rushner şi colab., 1960). În splină şi ganglionii limfatici există foliculi limfatici chiar hiperplaziaţi, însă plasmocitele lipsesc. La testul de transformare blastică la P.H.A. răspunsul imun este scăzut, arătînd un deficit şi pe linie de Lc T (Tormey şi colab., 1967).

În cazurile cu hiperplazie timică tumorală se pot produce asocieri de tulburări variate autoimune şi hematopoetice ca miastenia gravis, anemia aregenerativă, A.H.A.I. etc. Evoluţia este mai severă în cazurile de tumoare timică cu deficit imun global în care se asociază deficitul de imunitate imediată (Lc B) şi de imunitate tardivă (Lc T), cu defect în rejecţia de grefă (Jeunet şi Good, 1968).

Timectomia poate să ducă la o restaurare a imunităţii şi a hematopoezei numai la o parte din cazuri. Se cunoaşte efectul bun al timectomiei în multe cazuri de miastenia gravis (Juvara şi colab., 1971).

Disgammaglobulinemiile. Deşi nu apar în clasificarea lui Gatti şi Good şi nici în cele recente ale lui Seligman, Fudenberg şi Good, avînd în vedere că chiar aceşti autori descriu ca forme aparte anumite tipuri clinice, credem că grupul întreg poate fi luat în considerare. Sînt cunoscute 7 tipuri de combinaţii cu sindroame clinice, ca tipul IV — ataxia telangectazică — şi tipul V sindromul Wiscott-Aldrich. Trebuie însă amintit că în aceste grupe variate, asocierile cu scăderi sau creşteri de diferite clase de Ig au mai multe mecanisme (Waldman, 1969; Kay, 1970). Ele pot să fie o consecinţă a dereglării homeostaziei sintezei lor, cu deficit în „feed-back"-ul regulator al răspunsului imun; pot să existe şi alte mecanisme ca hipersecreţia şi deperdiţia anumitor clase, cum se întîlneşte în enteropatia cu pierderi de proteine sau în sindromul nefrotic. Se adaugă apoi defecte în durata de viaţă şi în viteza de sinteză, consecinţă a dereglării interrelaţiilor dintre clase şi chiar subclase (cazul clasei IgG din formele 1, 2, 3, 4) (Waldman, 1969). Mecanisme diferite determină o dereglare a balanţei imune cu instalare de „immune inbalance", după expresia lui Hobbst (1968). Se pot distinge, din cele 7 grupe, cîteva tipuri clinico-biologice caracteristice.

CLASIFICAREA BOLILOR PRIN DEFICIT IMUN ŞI A DISGAMMAGLOBULINEMIILOR

Dereglări în sistemul timic (Lc.T)

— parţiale
— globale

— sindrom Di George
— aplazie limfocitară normoglobulinemică (Nezelof)
— displazia timică combinată (a-gammaglobulinemie cu limfopenie)
— disgenezie reticulară (deficit imunglobal cu aleucocitoză)

(Dereglări în sistemul bursal
(Lc. B. plasmocite)

- agammaglobulinemie tip Bruton (X-linked)
- agammaglobulinemie idiopatică IgA tardivă (sprue)
- hipogammaglobulinemie postnatală (18 — 30 luni)
- disgammaglobulinemii

Disglobulinemii
- deficit de sinteză
- hipercatabolism
- pierderi
- interreacţii anormale

tip I:	deficienţă de IgA, IgM. IgG aparent normal
tip II:	deficienţă de IgG, IgA. IgM crescut
tip III:	deficienţă izolată de IgG
tip IV:	deficienţă izolată de IgA (ataxie telangectazică)
tip V:	deficienţă izolată de IgM (sindrom Wiscott-Aldrich)
tip VI:	nivele IgG, IgA, IgM aparent normale
tip VII:	deficienţe de IgG, IgM. IgA crescut

Ataxia telangectazică apare în cadrul deficitului selectiv de IgA şi este considerat ca tipul IV în cadrul disgammaglobulinemiilor (Hobbs, 1968).

Din punct de vedere imunologic prezintă caracterele semnalate la grupul disgammaglobulinemiilor. Clinic se asociază două tulburări disgenetice: ataxia cerebeloasă şi ectaziile vasculare cutanate care apar mai tîrziu şi predomină în zonele cutanate expuse la lumină şi pe conjunctive. Se remarcă însă raritatea foarte mare a asocierii acestor tulburări, faţă de numărul mare de cazuri cu deficit IgA. Deficitul însă se întîlneşte la 60—80% din cazuri de ataxie telangectazică şi afectează atît IgA serică, cît şi pe cea secretată în tubul digestiv. În unele cazuri, deficitul imun este mai complex cu scădere şi de alte clase de IgG şi cu scădere moderată în imunitatea celulară. Sînt semnalate de asemenea cazuri care la necropsie au prezentat un timus de tip embrionar, fără distincţie între corticală şi medulară şi fără corpusculi Hassal sau un timus hipoplazic. În general zonele periferice, timus-dependente sînt hipoplazice.

Sindromul Wiscott-Aldrich. După relatarea celor mai multe cazuri este o disgammaglobulinemie de tip V, cu scăderi de IgM, clasele IgG şi IgA fiind normale sau chiar uşor crescute. Deficitul imun în formele mai avansate este însă mai complex cînd apar infecţii predominant faţă de germeni de Ag polizaharidice; răspunsul la germenii cu Ag proteinice este normal, cu secreţie de Ac 19 S. Defectul de apărare poate să fie la nivel fagocitar, unde nu se produce o activitate bactericidă normală cu Ag mucopolizaharidice, probabil printr-un defect de opsonizare (Kay, 1970; Pearson şi colab., 1966; Cooper şi colab., 1968). Infecţiile cele mai obişnuite

Scanned with OKEN Scanner

sînt pulmonare cu pneumococ, cu pneumocistis carini, dar şi cu virusuri sau fungi, demonstrînd şi un deficit imun celular care se constată la necropsie prin depleţia zonelor cu Lc T.

Caracteristica clinică particulară este asocierea deficitului imun cu trombocitopenie, cu hemoragii repetate şi grave.

După descrierea iniţială a lui Aldrich şi colaboratori, sindromul este ereditar, sex-linked la bărbaţi, tulburările apărînd după vîrsta de 10 ani. De semnalat încercările de restabilire a imunităţii prin transplante de măduvă, cînd se corectează trombocitopenia şi deficitul imun anticorpic şi apar izohemaglutininele.

Disglobulinemia de tip II (scădere de IgA şi IgE, cu IgM normal sau crescut) este descrisă ca formă aparte, puţin caracterizată clinic, însă cu unele caractere speciale imune şi morfologice. IgM crescut mult, la 150 — 1 000 mg%, nu se comportă ca un component monoclonal; are o structură normală în structura lanţurilor kapa şi lambda şi cu caractere de Ac.

Histopatologia prezintă alterări considerate caracteristice pentru studiul secreţiei de IgM în afara limfoamelor maligne. În cazurile cercetate, din formele dobîndite primare în ganglioni există foliculi cu bogăţie de plasmocite care se colorează intens PAS-pozitiv, IgM secretate fiind bogate în hidrocarbonate. Lc şi plasmocitele sechestrante infiltrează toate ţesuturile limfoide, precum şi alte ţesuturi ca intestinul, rinichiul, ficatul ca în boala Walddenström. Există uneori hipertrofie amigdaliană gigantă prin infiltraţia plasmocitară, necesitînd amigdalectomia.

Din punct de vedere clinic, boala apare congenitală sex-linked la băieţi, cu cazuri descrise la gemeni identici (Holland şi Holland, 1966). S-au descris însă şi cazuri cu caracter dobîndit la femei sau fete adulte (Gleich şi colab., 1965). Semnele clinice sînt de deficit imun cu infecţii repetate bacteriene; există tulburări sanguine cu trombocitopenie, neutropenie şi leziuni renale şi, de asemenea, anemia hemolitică sau aplazia medulară, considerate ca manifestări autoimune.

Încercările de a corecta tulburările prin administrare de IgG au dus în general la reglarea secreţiei de IgM cu scăderea lor spre valori normale şi la ameliorarea tulburărilor considerate ca autoimune (Stiehm şi Fudenberg, 1966).

Sindromul de „imunopareză" cu lipsă de răspuns imun specific cuprinde o grupă foarte polimorfă atît imunologic, cît şi clinic. Seligman (1968) crede că pot să existe deficite de interreacţie a Ig în răspunsul imun; deşi acestea cantitativ sînt normale pot avea tulburări în structura lanţurilor polipeptidice (Kay, 1970). În unele cazuri, Ig au fost descrise ca „inerte" incapabile de a coopera în răspunsul imun, ar fi vorba deci de o deficienţă calitativă la Ig (Williams, 1966).

Anomalia descrisă iniţial ca imunopareză apare ca disglobulinemie de tip I, cu scădere de IgA şi IgM, dar cu IgG normal. Cazurile de pneumonie Hecht cu celule gigante, precum şi răspunsul deficitar la virusul vaccinal sînt incluse în această grupă rău delimitată (Nahmias şi colab., 1967), în care intervine probabil şi deficitul imun celular (Burnet, 1968).

Scanned with OKEN Scanner

D. SINDROAME DE DEFICIT IMUN TIMO-DEPENDENTE

Sindromul Di George este considerat ca forma clasică pură în care există o depresiune selectivă genetică a imunităţii celulare timo-dependentă cauzată de aplazia completă a timusului. Anomalia genetică este mai complexă, afectează şi alte organe care derivă din buzunarele faringiene III şi IV, determinînd asocieri patologice variate ca arcul aortic la dreapta, tetralogia Fallop, coarctaţia aortei, hipoplazie paratiroidiană cu tetanie. Există, de asemenea, anomalii ale gurii, buzelor, cu aspect în „gură de peşte", de asemenea ale urechilor şi nasului şi ale maxilarului inferior.

Deşi congenitală, anomalia nu este ereditară, apărînd izolat în anumite familii, probabil prin unele accidente intrauterine.

În forma sa pură, descrisă de Di George, în 1965, aplazia timică determină depleţia de Lc în zonele limfoide timo-dependente, cu scădere variabilă de Lc periferice. Testele imune arată un deficit total de imunitate celulară ; transformarea blastică la PHA sau la Lc alogene este negativă. Senzibilizarea de contact prin DNFB este absentă ; rejecţia de grefă de piele este, de asemenea, absentă sau întîrziată. Alte teste, ca testul de inhibiţie a migrării macrofagelor este de asemenea negativ. Toate reacţiile imune de tip imediat sînt normale, Ig fiind de calitate şi cantitate normală.

Clinic, pe lîngă tulburările produse de anomaliile vasculare şi paratiroidiene (nefroscleroză) există o predispoziţie mare la infecţii virotice şi fungice.

Încercările de restabilire a imunităţii celulare prin grefa de timus fetal au dat rezultate foarte bune, restabilind aproape complet deficitul imun clinic şi celular (August şi colab., 1968 ; Cleveland şi colab., 1968). În general însă, copiii mor devreme, chiar în formele de deficit imun moderat prin celelalte anomalii organice.

Displazia timică ereditară (agammaglobulinemia de tip elveţian ; sindromul de deficit imun combinat sever) este forma de deficit imun cea mai gravă, supravieţuirile nedepăşind 2 ani. Descrisă iniţial în Europa de elveţienii Glanzmann şi Riniker (1950), ca o formă gravă de agammaglobulinemie, a fost reconsiderată ca formă mixtă de deficit imun în care gravitatea este dată de deficitul imun celular. Ulterior a fost descrisă sub această formă mixtă în America (Gitlin şi Craig, 1963) cu acelaşi caracter clinic şi imunologic, însă diferit genetic de cel din Europa. În prezent sînt autori care descriu ca formă aparte acest tip, fiind sex-linked precis determinat genetic. Boala afectează numai băieţii la mai multe generaţii ; s-a descris la gemenii băieţi, la fraţi de aceeaşi mamă, însă cu paternitate diferită (Miller, 1967). Cealaltă formă genetică apare autosomală recesivă la băieţi şi la fete cu caracter familial, considerîndu-se în parte cauzată de căsătorii consanguine (Hitzig şi colab., 1965). După Gatti şi Good nu există argumente clinice şi biologice ca să fie considerate ca două forme aparte, în afară de diferenţele genetice. Existenţa formei XY face ca în cazurile descrise pînă acum să predomine băieţii în raport de 3/1.

Din punct de vedere morfologic, la ambele forme se găseşte o atrofie a timusului care nu depăşeşte 1 g şi nu coboară în mediastinul anterior, descoperindu-se greu la necropsie ; este hipoplazic, scleros, fără corpusculi

Scanned with OKEN Scanner

Hassal. Ţesuturile limfoide periferice, amigdalele, ganglionii limfatici, splina sînt atrofiate fără foliculi şi fără plasmocite; se găsesc rare Lc şi o stromă celulară în care predomină celulele reticulare, uneori eozinofilele.

Investigaţiile imune arată scăderea Ig ca în boala Bruton cu eterogenitate restrînsă a subclaselor de IgG unde scăderile sînt pînă la 25—60 mg%. Sînt absente imunhemaglutininele alfa şi beta, iar în unele cazuri scade C1q (Köhler şi colab., 1969). Răspunsul la vaccinuri este nul, iar reacţia Shick rămîne pozitivă după anatoxina difterică. Imunitatea celulară este, de asemenea, grav alterată : Lc periferice sînt scăzute de la naştere, ajungînd uneori sub 500/mm^3. Biopsia de ganglion şi puncţia medulară arată absenţa plasmocitelor şi Lc, semn caracteristic de diagnostic. Există de multe ori o leucopenie moderată compensată de creşterea eozinofilelor. Trombocitele şi granulocitele sînt normale însă acestea nu cresc în infecţii. Testele specifice sînt negative : transformarea blastică la PHA, la Lc izologe, la sensibilizarea prin DNBF, rejecţia de grefă, testele *in vitro* specifice de sensibilizare a Lc la PPD, eliberarea de MIF etc. În ţesuturile inflamate se găsesc puţine celule de inflamaţie.

Clinic, infecţiile se manifestă după primele luni cînd au dispărut Ac mamei. Au caracter mixt, cu bacterii diverse, cu virusuri, mai ales cu fungi. Există un muguet permanent, infecţii ale căilor aeriene şi digestive superioare, precum şi infecţii pulmonare şi bronhopulmonare recidivate. Diareea este permanentă şi constituie complicaţia cea mai gravă, determinînd şi deshidratare continuă cu pierderi de proteine. Infecţiile intestinale sînt mai ales prin salmonele şi *Escherischia coli*. În cele pulmonare există frecvent infecţii cu *Pneumocistis carini*, *Pseudomonas*, concomitent cu germeni Gram-negativi şi *Candida*. Piodermitele cu piogen sînt permanente. Infecţiile virale ale primei copilării (rujeola, rubeola, varicela) iau forme dramatice, hipertoxice, putînd cauza o moarte fudroaiantă. Pneumonia cu celule gigante în rujeolă, infecţiile cu citomegalovirus ca şi alte infecţii cu adenovirusuri sînt, de asemenea, frecvente şi grave. Vaccinurile cu BCG şi cele antivariolice dau complicaţii grave, uneori mortale.

Prognosticul este totdeauna grav, infecţiile continue determinînd moartea înainte de doi ani.

Tratamentul. Administrarea de gammaglobuline în prima perioadă nu a dat nici un rezultat. Încercările de restaurare a imunităţii prin transplantare de timus au dus la restabilirea temporară a imunităţii şi la vindecarea infecţiilor. Restaurarea prin transplant de măduvă şi prin Lc periferice este incertă, iar reacţia de grefă contra gazdei care se instalează secundar agravează ulterior atrofia limfocitară a bolnavilor, prin incompatibilitatea într-o singură alelă în sistemul HL-A (Kretschmer şi colab., 1969). Există cîteva cazuri ameliorate prin transplant de măduvă compatibilă după testarea în culturi mixte de Lc; restabilirea pare şi mai bună după transplantarea de măduvă şi timus fetal (De Koning şi colab., 1969).

Deşi promiţătoare, imunoterapia adoptivă cu timus sau măduvă este încă grevată de reacţia contra gazdei (Amman şi colab., 1970). Alegerea donorului cu compatibilitatea absolută prin teste de mare sensibilitate şi menţinerea copilului în cameră germ-free vor putea schimba evoluţia bolii.

★

Scanned with OKEN Scanner

Hassal. Ţesuturile limfoide periferice, amigdalele, ganglionii limfatici, splina sînt atrofiate fără foliculi şi fără plasmocite ; se găsesc rare Lc şi o stromă celulară în care predomină celulele reticulare, uneori eozinofilele.

Investigaţiile imune arată scăderea Ig ca în boala Bruton cu eterogenitate restrînsă a subclaselor de IgG unde scăderile sînt pînă la 25—60 mg%. Sînt absente imunhemaglutininele alfa şi beta, iar în unele cazuri scade C1q (Köhler şi colab., 1969). Răspunsul la vaccinuri este nul, iar reacţia Shick rămîne pozitivă după anatoxina difterică. Imunitatea celulară este, de asemenea, grav alterată : Lc periferice sînt scăzute de la naştere, ajungînd uneori sub 500/mm³. Biopsia de ganglion şi puncţia medulară arată absenţa plasmocitelor şi Lc, semn caracteristic de diagnostic. Există de multe ori o leucopenie moderată compensată de creşterea eozinofilelor. Trombocitele şi granulocitele sînt normale însă acestea nu cresc în infecţii. Testele specifice sînt negative : transformarea blastică la PHA, la Lc izologe, la sensibilizarea prin DNBF, rejecţia de grefă, testele *in vitro* specifice de sensibilizare a Lc la PPD, eliberarea de MIF etc. În ţesuturile inflamate se găsesc puţine celule de inflamaţie.

Clinic, infecţiile se manifestă după primele luni cînd au dispărut Ac mamei. Au caracter mixt, cu bacterii diverse, cu virusuri, mai ales cu fungi. Există un muguet permanent, infecţii ale căilor aeriene şi digestive superioare, precum şi infecţii pulmonare şi bronhopulmonare recidivate. Diareea este permanentă şi constituie complicaţia cea mai gravă, determinînd şi deshidratare continuă cu pierderi de proteine. Infecţiile intestinale sînt mai ales prin salmonele şi *Escherischia coli*. În cele pulmonare există frecvent infecţii cu *Pneumocistis carini*, *Pseudomonas*, concomitent cu germeni Gram-negativi şi *Candida*. Piodermitele cu piogen sînt permanente. Infecţiile virale ale primei copilării (rujeola, rubeola, varicela) iau forme dramatice, hipertoxice, putînd cauza o moarte fudroaiantă. Pneumonia cu celule gigante în rujeolă, infecţiile cu citomegalovirus ca şi alte infecţii cu adenovirusuri sînt, de asemenea, frecvente şi grave. Vaccinurile cu BCG şi cele antivariolice dau complicaţii grave, uneori mortale.

Prognosticul este totdeauna grav, infecţiile continue determinînd moartea înainte de doi ani.

Tratamentul. Administrarea de gammaglobuline în prima perioadă nu a dat nici un rezultat. Încercările de restaurare a imunităţii prin transplantare de timus au dus la restabilirea temporară a imunităţii şi la vindecarea infecţiilor. Restaurarea prin transplant de măduvă şi prin Lc periferice este incertă, iar reacţia de grefă contra gazdei care se instalează secundar agravează ulterior atrofia limfocitară a bolnavilor, prin incompatibilitatea într-o singură alelă în sistemul HL-A (Kretschmer şi colab., 1969). Există cîteva cazuri ameliorate prin transplant de măduvă compatibilă după testarea în culturi mixte de Lc ; restabilirea pare şi mai bună după transplantarea de măduvă şi timus fetal (De Koning şi colab., 1969).

Deşi promiţătoare, imunoterapia adoptivă cu timus sau măduvă este încă grevată de reacţia contra gazdei (Amman şi colab., 1970). Alegerea donorului cu compatibilitatea absolută prin teste de mare sensibilitate şi menţinerea copilului în cameră germ-free vor putea schimba evoluţia bolii.

★

Scanned with OKEN Scanner

Celelalte forme de deficit imun timic sînt în marea majoritate asocieri cu cele prin deficit de tip imediat congenitale sau dobîndite şi au fost semnalate anterior. În general, agammaglobulinemiile mai puţin caracterizate ca cele dobîndite primare şi cele din disglobulinemii se însoţesc la început sau mai tîrziu de deficit imun de tip celular cu predispoziţie la infecţii fungice şi virale. Cele două sindroame Wiscott-Aldrich şi ataxia telangectazică sînt grupate de unii autori în cadrul bolilor de deficit timic; este greu de susţinut însă dacă predomină un deficit sau altul. Pentru acestea, Comisia OMS de la Geneva, din iunie 1970, considera ca „imunodeficite variabile" grupul descris ca agammaglobulinemii dobîndite sau disgammaglobulinemii. Conform clasificării noastre (p. 254), unele din sindroamele legate de anumite grupuri apar ca forme separate, greu clasificabile, aşa cum sînt „sindroamele limfopenice prin limfagiectazie intestinală" (Gatti şi Good, 1972) sau „limfopenii pasagere" depistate după infecţii virale cu apariţia de Ac anti-limfocitari (Kretschmer şi colab., 1968).

Un sindrom aparte de asociere a deficitului imun cu distrofii ectodermice şi modificări de cartilaje a fost descris de Gatti şi colab., (1969), ca boală genetică autosomală sub numele de „agammaglobulinemie limfopenică cu Dwarfism şi displazie ectodermică".

Sindromul de deficit imun global asociat cu deficit de leucopoeză, descris de De Vaal ca disgenezie reticulară completă, nu mai apare semnalat în ultimii ani, ca şi forma aparte de deficit imun limfocitar descrisă de Nezelof (1964).

Aceste diverse combinaţii, inclusiv disgenezia reticulară cu caracter genetic sau dobîndit, apar pure sau complexe în patologia sistemului limforeticular şi în leucemiile nediferenţiate.

BIBLIOGRAFIE

Ammann A. J., Meuwissen H. J., Good R. A., Hong R., Clin. Exp. Immunol., 1970, *7*, 343.

August C. S., Rosen F. S., Filler R. M., Janeway C. A., Markowski B., Kay H. E. M., Lancet, 1968, *2*, 1 210.

Bachmann R., Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1965, *17*, 316.

Barandum S., Stampfli K., Spengler G. A., Riva G., Helv. Med. Acta, 1961, *26*, 163.

Barnett E., Winkelstern A., Weinberger H. J., Amer. J. Med., 1970, *48*, 40.

Berceanu Şt., Microbiol. Parazitol. Epidemiol., 1972, *1*, 77.

Berceanu Şt., în *Imunologie şi Imunopatologie*, sub. red. I. Mesrobeanu şi Şt. Berceanu, partea generală, Edit. medicală, Bucureşti, 1968.

Bruton O. C., Pediatrics, 1952, *9*, 722.

Burnett F. M., Lancet, 1968, *11*, 610.

Cleveland W. W., Fogel B. J., Brown W. T., Kay H. E. M., Lancet, 1968, *2*, 1 211.

*** Comisia O.M.S., Sesiunea 8 — 13 iunie 1970, citat de John P. Merrill, în *Imunological Diseases*, sub red. Samter M., ed. a 2-a. 1971, 1, 511.

Cooper M. D., Chase H. P., Lowman J. T., Kriwit W., Hood R. A., Amer. J. Med., 1968, *44*, 499.

De Koning J., Van Bekkum D. W., Dicke K. A., Dooren L. J., Van Rood J. J., Radl J., Lancet, 1969, *1*, 1 223.

De Vaal O. M., Seynhaeve U., Lancet, 1959, *2*, 1 123.

Gatti R. A., Platt N., Pomerance H. H., Hong R., Langer L. O., Kay H. E. M., Good R. A., J. Pediat., 1960, *75*, 675.

Scanned with OKEN Scanner

GATTI R. A., GOOD R. A., în *Hematology* sub red. WILLIAMS W. J., BEUTLER E., ERSLEV A. J., RUNDLES R. W., Mc. Graw-Hill Book Company A Blakiston Publication, 1972, p. 540.
GITLIN D., CRAIG J. M., Pediat., 1963, *32*, 517.
GLANZMANN E., RINIKER P., Ann. Paediat. (Basel), 1950, *175*, 1.
GLEICH G. J., CONDEMNI J. J., VAUGHAN J. H., New Engl., J. Med., 1965, *272*, 331.
GOOD R. A., Hospital Practica, 1967 *2*, 1.
GOOD R. A., ZAK S. J., Pediat., 1956, *18*, 109.
GOOD R. A., FINSTAD J., în ZARAFONETIS C. J. D., *Proceeding of International Conference on Leukemic -Lymphoma*, Lee a. Febiger, Philadelphia, 1968, p. 175 — 197.
HERMANS P. E., HUIZENGA K. A., HOFFMAN H. N., BROWN A. L. Jr., MARKOWITZ H., Amer. J. Med., 1966, *40*, 78.
HITZIG W. H., KAY H.E.M., COTTIER H., Lancet, 1965, *2*, 151.
HOBS J. R., Lancet, 1968, *1*, 110.
HOLLAND N. H., HOLLAND P., Lancet, 1966, *2*, 1 152.
HONG R., GOOD R. A., Science, 1967, *156*, 1 102.
JANEWAY C. A., MERLER E., ROSEN F. S., SALMON S., CRAIN J. D., New Engl. J. Med., 1968, *278*, 919.
JEUNET F. S., GOOD R. A., în *Immunological Deficiency Diseases in man* sub red. GOOD R. A., BERGSMA D., National Fondation Press, New York, 1968, *IV*, 192.
JUVARA I., MOTOMANCEA D., Lyon Chirurgicale, 1971, *64*.
KAY H. E. M., Rev. Europ. Et. clin. Biol., 1970, *XV*, 249.
KOHLER P. F., MÜLLER-EBERHARD H. J., Science, 1969, *163*, 414.
KRETSCHMER R., JEANNET M., MEREV T. R., KRETSCHMER K., WINN H., ROSEN F. S., Pediat. Res., 1969, *3*, 34.
KUSHNER D. S., DUBIN A., DONLON W. P., BRONSKY D., Amer. J. Med., 1960, *29*, 33.
MILLER M. E., J. Pediat., 1967, *70*, 730.
MILLER M. E., KUMMELER K., J. Pediat., 1967, *70*, 737.
NAHMIAS A. J., GRIFFITH D., SALSBURY C., YOSHIDA K., J.A.M.A., 1967, *201*, 729.
NEZELOF C., KAMMET M. L., LORTHOLARY P., LABRUNE B., LAMY M., Arch. Fanc. Pediat., 1964, *21*, 897.
PEARSON H. A., SHULMAN N. R., OSKI F. A., EITZMAN D. V., K. Pediat., 1966, *68*, 754.
ROBBINS J. B., SKINNER R. G., PEARSON H. A., New Engl. J. Med., 1969, *280*, 75.
ROSEN F. S., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., ed a 2-a, Little Brown and Company Boston, 1971, *1*, 497.
ROSEN F. S., HUTCHISON G. B., ALLEN F. H. JR., Vox Sang, 1965, *10*, 729.
SELIGMANN M., FUDENBERG H. H., GOOD R. A., Amer. J. Med., 1968, *45*, 817.
SOOTHILL J. F., în *Clinical aspects of immunology*, sub red. GELL P. H.G., COOMBS R. R. A., ed. a 2-a, Blackwell Scientific Publ., Oxford-Edinburgh, 1968, p. 540.
STIEHM ER., FUDENBERG H. H., Amer. J. Med., 1966, *40*, 805.
STOCKER F., AMMANN P., ROSSI E., Arch. Dis. Child, 1968, *43*, 585.
TORMEY D. C., KAMIN R., FUDENBERG H. H., J. Exp. Med., 1967, *125*, 863.
VYAS G. N., PERKINS, H. A., FUDENBERG, H. N., Lancet, 1968, *2*, 312.
WALDMAN TH., N. Eng. J. Med., 1969, *281*, 1 170.
WILLIAMS R. T., Clin. Exp. Immun., 1966, *1*, 223.

Scanned with OKEN Scanner

11. BOLILE ALERGICE

I. GR. POPESCU

Marea majoritate a sindroamelor alergice evoluează cu hiperproducţie de imunoglobuline (IgE în special) şi au un ,,caşet'' aparte, ceea ce face să fie mai exact grupate sub denumirea de sindroame imunalergice şi să formeze un capitol special de imunalergie clinică. Sindroamele astfel încadrate sînt foarte răspîndite, incidenţa de populaţie totală putînd depăşi 10%, şi de gravitate extrem de variată.

A. REACŢII ŞI BOLI DE HIPERSENSIBILITATE

Alergia (în acest capitol, spre deosebire de cap. 7, termenul de hipersensibilitate este utilizat în acest sens, mai restrîns) este o ramură a imunologiei şi, în acelaşi timp, un capitol de medicină clinică, pediatrie şi dermatologie.

,,Injuria'' tisulară produsă prin reacţia imună dintre antigen şi anticorp este de mai multe tipuri (cap. 7); pentru motive clinice, preferăm clasificarea reacţiilor alergice după Coombs şi Gell:

Tip I. Reacţii alergice anafilactice. Atopia.
Tip II. Reacţii citolitice şi citotoxice.
Tip III. Fenomen Arthus, boala serului, sindromul de complexe antigen — anticorp.
Tip IV. Reacţii de tip tuberculinic (întîrziat, celular).

Primele 3 tipuri corespund hipersensibilizării de tip imediat, prezentînd unele deosebiri esenţiale. Astfel, leziunile apar în anafilaxie la cîteva secunde sau minute după un nou contact cu alergenul, iar în fenomenul Arthus în 4—6 ore, îmbrăcînd un caracter ,,semitardiv''. Leziunile principale, care apar în tipul I (vasodilataţie, spasm al muşchilor netezi, edem local, hiperactivitatea glandelor mucoase) sînt legate de prezenţa anticorpilor circulanţi şi duc fie la deces (dacă antigenul a fost introdus i.v. şi în cantitate mare), fie la restaurarea completă a bolnavului, acesta nemaipăstrînd decît o reacţie de tip papulă-eritem, la testarea cutanată. Leziunea din fenomenul Arthus este întrucîtva asemănătoare cu cea de tip tardiv, putînd duce la fenomene de necroză, prin precipitarea în vase (în prezenţa leucocitelor neutrofile) a complexelor antigen — anticorp (cap. 7). O situaţie intermediară se întîlneşte în boala serului (sau sindrom de ,,tip boala serului''), la care participă anticorpi precipitanţi, dar şi cutansensibilizanţi. Cele trei tipuri de hipersensibilitate imediată apar, în general, independent unul de altul; în aspergiloza bronhopulmonară putem întîlni însă şi anticorpi precipitanţi şi cutansensibilizanţi. De asemenea, hipersensibilitatea de tip imediat se întîlneşte de

obicei izolat de cea de tip tardiv ; sînt descrise totuşi alergii simultane la inhalanţi (tip imediat) şi la tuberculină sau germeni microbieni (tip tardiv)(cap.7).

Unii autori (mai ales americani) întrebuinţează termenul de *anafilaxie* pentru hipersensibilitatea la animale indusă experimental, iar termenul de alergie pentru hipersensibilitatea apărută la om spontan sau indusă. După descoperirea hipersensibilizării medicamentoase apare nelogică întrebuinţarea termenului de anafilaxie numai pentru hipersensibilitatea la animale ; sindromul de şoc anafilactic (sau de tip ,,şoc anafilactic") a fost redescris în sensibilizarea la penicilină (şi altele), ca şi sindromul, de ,,tip boala serului" sau hipersensibilitatea tardivă.

În tabelul nr. 18 redăm clasificarea alergiilor, care combinată cu cea din tabelul nr. 19 prezintă numeroase avantaje, aşa cum a semnalat Criep (1962).

Tabelul nr. 18
Tipuri de alergie (după Gray, 1964)

Tip de hipersensibilitate	Anticorpi	Agenţi excitanţi
Alergie de tip imediat indusă	anticorpi precipitanţi	histamina şi substanţe înrudite ca efect
Alergie de tip imediat spontană (atopia)	anticorpi cutansensibilizanţi	*idem*
Alergie de tip întîrziat	nedemonstrabili	mediere prin celule imunologic modificate

Tabelul nr. 19
Tipuri de hipersensibilitate

1.	Hipersensibilitatea de tip imediat, asociată cu anticorpi circulanţi	
	A. Indusă	a) anafilaxia generală (sistemică) sau locală b) reacţii citolitice şi citotoxice c) fenomen Arthus şi sindromul boala serului
	B. Spontană	Atopia : astm bronşic, febra de fîn, dermita atopică, urticaria şi edemul angioneurotic
2.	Hipersensibilitatea de tip întîrziat, neasociată cu anticorpi circulanţi	
	A. Infecţioasă	virală, bacteriană, fungică şi ,,reacţia id"
	B. Neinfecţioasă	dermatta de contact, erupţii fixe

B. HIPERSENSIBILITATEA DE TIP IMEDIAT, INDUSĂ. ANAFILAXIA

Experienţele princeps ale lui Richet şi Portier (în 1902) au dus la ideea că şocul anafilactic nu este produs numai de agenţii toxici sau patogenici; numeroase substanţe introduse la multe specii de animale, la un interval de 10—21 de zile pot induce şocul anafilactic. De asemenea, anafilaxia poate fi indusă prin administrare de antiseruri, obţinute prin imunizare activă.

Starea de anafilaxie indusă prin sensibilizare activă (de ex. albuş de ou, la cobai) se numeşte *anafilaxie activă*, iar *cea indusă prin administrare de anticorpi, anafilaxie pasivă* (Samter şi Alexander, 1965). În anafilaxia activă, prima injecţie (cea sensibilizantă) este urmată de a doua (de şoc), i.v.,

Scanned with OKEN Scanner

i. peritoneal, s.c., aerosoli etc., la un interval de timp ; în anafilaxia pasivă, anticorpii se administrează i.v. sau i. peritoneal, apoi după 24—48 de ore urmează injecţia i.v. (de şoc). Uneori se poate injecta mai întîi antigenul şi după 24—28 de ore anticorpii; acest tip se numeşte *anafilaxie pasivă inversă* (cap. 7).

Anafilaxia sistemică a revenit pe primul plan în patologia alergică umană numai după cercetările referitoare la alergia medicamentoasă.

Fenomenul Arthus, descris de Arthus în 1903, se diferenţiază de anafilaxia cutană pasivă prin faptul că nu necesită perioada de latenţă, iar histamina nu pare a avea vreun rol; sînt necesare însă polinuclearele neutrofile (cap. 7). Se crede că fenomenul Arthus este observat mai ales în experimentul pe animale; Pepys (1968, 1969) a arătat că aspergiloza bronhopulmonară evoluează ca un fenomen Arthus, cu teste cutanate pozitive semitardive.

Boala serului se încadrează, împreună cu fenomenul Arthus, în tipul III de reacţii alergice.

C. HIPERSENSIBILITATEA DE TIP IMEDIAT, SPONTANĂ. ATOPIA

Hipersensibilitatea (alergia) produce diferite tipuri de leziuni patologice, care afectează diverse organe ale corpului (Gray, 1964; Sherman, 1960), dar cele mai multe din sindroamele alergice care apar la om se încadrează în grupul denumit de Coca (1931) şi Cooke (1947) ,,atopie". Termenul de ,,atopie" a trecut, istoric vorbind, prin cel puţin două perioade, în prima, acceptat de mulţi, dar criticat violent, chiar de cei care nu-i găseau un înlocuitor, şi în a doua, în care şi-a găsit doar parţial o bază imunologică.

Tipul hipersensibilităţii atopice este şi astăzi caracterizat prin apariţia reacţiei urticariene (papulă şi eritem), imediat după testarea cu antigeni specifici şi prin transferul pasiv (P.K.); cea de-a doua caracteristică, caracterul ereditar, nu poate fi demonstrată decît în cel mult 40% din cazuri.

În concepţia primară a lui Coca şi Cooke, ,,atopie" avea următoarele caracteristici :

1) se prezintă ca o sensibilizare spontană, fiind o reacţie cu un mecanism imun anormal, dar la o expunere normală (obişnuită) de antigeni,

2) este o boală a speciei umane,

3) prezintă o predispoziţie ereditară, ceea ce duce la dezvoltarea ei (creşterea numărului de bolnavi),

4) în atopie apare un tip special de anticorpi, ,,reagine", anticorpi cutansensibilizanţi şi, dacă se administrează tratament hiposensibilizant specific, anticorpi blocanţi.

Primul şi ultimul postulat îşi păstrează şi astăzi o mare valabilitate. În ceea ce priveşte cel de-al doilea postulat, Patterson şi colab. au descris, la cîine, astm şi rinită periodică, iar Sheldon şi Lowell, la cîine, un astm periodic, datorit probabil fungilor atmosferici. Ar fi mai corect să se spună că ,,atopia" este, după cunoştinţele actuale, o boală cu predominanţă a speciei umane, putîndu-se întîlni şi la unele animale. Cele mai severe critici au fost făcute cu referire la postulatul al treilea ; într-

Scanned with OKEN Scanner

adevăr, natura ereditară (sau predispoziţia ereditară) nu poate fi demonstrată în mai mult de jumătate din cazurile de ,,atopie''. Schwartz (1952), care ni se pare cel mai serios cercetător al ,,eredităţii în atopie'', aduce o modificare a postulatului, vorbind despre ,,moştenire dominantă, dar cu penetraţie incompletă''. Copilul, cu tendinţa ereditară la atopie, nu se naşte sensibilizat, deoarece placenta este o barieră pentru anticorpii cutansensibilizanţi, chiar dacă aceştia sînt în cantitate foarte mare în sîngele cordonului ombilical; dar, la contactul cu antigenii (de mediu, dar şi alimentari), *copilul atopic se va sensibiliza, pe cînd cel neatopic, fiind expus în acelaşi fel, nu se va sensibiliza sau se va sensibiliza într-un procent cu mult mai mic*. Această afirmaţie este sigur neadevărată în două împrejurări: astmul epidemic (de ex. astmul de ricin), în care îmbolnăvirile sînt egale, şi astmul de tip Tristan da Cunha, de care s-au îmbolnăvit numai membrii aceleiaşi familii. Definiţia cea mai acceptată a atopiei înainte de 1966 *desemnează manifestările tipice de sensibilizare, care prezintă reacţie de edem şi roşeaţă după testarea cutanată cu antigen şi cuprinde astmul bronşic alergic, febra de fîn şi dermita atopică*.

În clasificarea propusă de Gell şi Coombs, atopia este încadrată, împreună cu anafilaxia, în tipul I de reacţii; rezerva făcută de imunoclinicienii englezi, adică încadrarea a acestor două subtipuri în acelaşi tip I, este oarecum îndreptăţită. În anul 1966 (aici ni se pare că începe a doua perioadă), Ishizaka şi colab. au detectat şi identificat imunoglobulina E (IgE, γE), pe care au considerat-o ca fiind ,,cărăuş'' al anticorpilor reaginici. Ishizaka, într-o lucrare anterioară, îşi criticase singur opinia că ,,reagina'' s-ar găsi în banda de precipitare a imunoglobulinei A. Rolul anticorpilor IgE pare a fi deci acela de a sensibiliza speciile omologe; această însuşire ţine de afinitatea moleculelor de gamma E pentru celulele-ţintă. Prin tehnica ,,reacţiei de tip invers'' s-a arătat că sensibilizarea se produce nu numai la piele, *ci şi în leucocit*, prin sensibilizarea pasivă şi eliberare de histamină (om), în principal din leucocitul bazofil *şi în plămînul de maimuţă*, cu eliberare de histamină şi S.R.S.A.

Am putea conclude, că anticorpii ,,reaginici'' sînt legaţi de IgE (γE), o clasă aparte de imunoglobuline (component minor al proteinelor serice); mecanismul intim de acţiune al IgE în atopie nu este cunoscut, într-un anumit moment putînd interveni secvenţe enzimatice (poate chiar adenilciclaza).

În urmă cu 10 ani, Motta descrisese două tipuri de anticorpi, ,,sensibilizaţi de celulă mastocitară'', la şobolan; unul dintre ei este capabil să transfere, după o perioadă de latenţă, anafilaxia pasivă şi este asemănător cu ,,reagina'' prin proprietatea de fixare la piele şi labilitatea la căldură. Acest anticorp a fost denumit de către Austen şi Becker (1968): anticorp homocitotropic (tabelul nr. 20).

Tabelul nr. 20
Anticorpii timpuriu şi tîrziu

	Precipitare	Fixare de complement	Labilitate la căldură	Persistenţă la piele	Concentraţia serului
Anticorp timpuriu (9 h)	+	+	0	scurtă	mare
Anticorp tîrziu		−	+	lungă	mică

Anticorpii homocitotropici, anticorpii sensibilizanţi de celulă mastocitară şi anticorpii reaginici (IgE) au multe caracteristici comune; este probabil ca stimularea antigenică să fie urmată de apariţia mai mult decît a unui singur fel de anticorpi şi, din acest punct de vedere, gruparea anafilaxiei cu atopia în acelaşi timp este îndreptăţită.

Ar părea că descoperirea IgE a dat o bază imunologică solidă conceptului de „atopie"; cercetările ulterioare îndreptăţesc însă numai în parte această afirmaţie. Într-adevăr, dacă în astmul „atopic" („extrinsec-alergic"), în febra de fîn şi dermita atopică se întîlnesc aproape constant creşteri ale IgE, Arbesman găseşte într-un caz de osteomielită o creştere imensă (IgE = 30 800 ng/ml), iar Leonardy şi Peacock (1972) creşteri constante în infecţiile parazitare (media: IgE = 7 000 ng/ml). Întrebarea este dacă această creştere în infecţii acute şi în infestările parazitare este cauză sau efect. Creşteri semnificative de IgE se găsesc şi în boala coeliacă şi ciroza Laënnec, fără a avea o explicaţie satisfăcătoare. De asemenea este neclară interrelaţia dintre IgE şi IgA; se ştie doar că în deficienţa selectivă, IgA se însoţeşte de cifre foarte mici de IgE (sau chiar de absenţa lor).

Conceptul de „atopie" a apărut în opoziţie sau în paralelism cu cel de anafilaxie; întrucît din punctul de vedere al imunalergiei clinice se menţin unele deosebiri între cele două tipuri de anticorpi (anafilactici şi „reaginici") reluăm şi noi datele care au încă valabilitate.

De mulţi ani sînt acceptate, parţial sau total, următoarele caracteristici ale „reaginei":

a) Reagina nu trece prin bariera placentară — copilul moşteneşte numai „predispoziţia la sindroame alergice". Anticorpii anafilactici trec prin bariera placentară — copilul moşteneşte sensibilizarea de la mamă (vom întîlni sindroame anafilactice familiale pentru acelaşi antigen, de ex.: albuş de ou).

b) Reagina îşi pierde proprietăţile prin încălzire la 56°C, timp de 7 ore; dacă încălzirea se face numai 20′ se pierd numai proprietăţile blocante.

c) Reagina rămîne ataşată de piele — este nedifuzabilă — pînă cînd interacţiunea cu antigenul omolog va duce la eliberarea histaminei şi a altor substanţe.

d) Reagina contribuie şi la sensibilizarea altor ţesuturi în afară de piele, de exemplu: plămînul (mai exact arborele bronşic) şi lanţul ganglionar bronşic.

Pentru cei mai mulţi cercetători, ataşarea la piele şi termolabilitatea sînt cele două caracteristici fundamentale ale reaginei; anticorpii cutan-sensibilizanţi, formaţi în altă parte decît în piele (cel mai frecvent în plasmocit şi în anumite organe) sînt produşi la interval de 2—3 zile, se ataşează de piele timp de circa 3 săptămîni şi, după interacţiunea cu antigenul specific, sensibilizează celula-ţintă (mastocit, bazofil) care va elibera substanţa de tipul „H", cauzele directe ale apariţiei sindromului clinic (cap. 7).

În afară de IgE, în sindroamele atopice pot interveni şi alte Ig: astfel, IgA intervine în patogenia astmului bronşic, iar la hemaglutinarea pasivă, din punct de vedere imunoelectroforetic, participă IgG şi IgM. Levine (1969) crede că predominanţa IgG este de bun augur în prognos-

Scanned with OKEN Scanner

ticul hipersensibilizării specifice (de ex : penicilină), cînd hemaglutinarea pasivă este pozitivă într-un titru mare.

Antigenele (alergenele) din alergia spontană. În mod obişnuit, aceste alergene, cele mai binecunoscute pînă acum, se încadrează în inhalanţi, injectanţi, paraziţi, contactanţi şi ingestanţi. Duchaine, neţinînd seama de poarta de intrare, a propus o clasificare mai simplă; alergeni ai vieţii obişnuite (inhalanţi, paraziţi etc.), alergeni ai vieţii profesionale (chimicale simple, ricin etc.) şi alergeni medicamentoşi (injectanţi, ingestanţi).

Între termenii „antigen", „alergen" şi „reactogen" există mare similitudine. În cazul atopiei se preferă termenul de „alergen".

Proprietăţile comune ale alergenilor atopici sînt puţine şi se referă la constituţia chimică — proteine sau polizaharide cu G.M. pînă la 40 000 — şi la faptul că ei sînt imunogeni mediocri. Alergenii atopici sînt importanţi în alergia spontană, unde terenul constituţional joacă sigur un rol, chiar dacă acesta nu este destul de clar în momentul de faţă.

Numărul alergenilor atopici este destul de mare. Inhalanţii sînt alergenii atopici cei mai importanţi, atît în ceea ce priveşte incidenţa manifestărilor clinice, cît şi a intensităţii sindroamelor apărute. Se includ aici; polenurile alergogene, fungii atmosferici, praful de casă, pulberi profesionale, peri şi epiderme de animale, rădăcina de orris etc.

Praful de casă este cel mai important, cel mai răspîndit şi cel mai misterios alergen; el este răspunzător de aproximativ 50% din afecţiunile alergice rino-traheo-bronşice. Rolul lui etiologic a fost întrevăzut în 1921, dar proba puterii alergizante a fost adusă de Cooks (1947) şi de Leeuwen (1921). Se admite că praful de casă este compus din polizaharide şi polipeptide.

Alergia la praful de casă are un caracter sezonier (toamna, iarna); această observaţie l-a făcut pe Van Leeuwen (1921) să caute un antigen specific în praful de casă (şi anume un acarian), dar meritul identificării acarianului revine lui Voorhorst (1970) şi Spicksma. Autorii citaţi consideră că *Dermatophagoides pteronyssimus* este alergenul propriu-zis din praful de casă; Pepys (1969), mai recent, adaugă un alt acarian şi anume: *Dermatophagoides culinae* sau *farinae*. Este foarte probabil că acestora li se vor adăuga şi alţi acarieni.

Praful de casă constituie factorul etiologic al sindroamelor clinice ca: rinita aperiodică, traheita spasmodică şi astmul bronşic.

Bazele imunologice ale alergiei la acarieni (praf de casă) se suprapun celor de hipersensibilizare umorală reaginică de tip I; ipoteza că acest alergen ar putea interveni în hipersensibilizarea de tip III rămîne de dovedit. IgE sau anticorpii homocitotropici ai subiecţilor sensibilizaţi se fixează pe celulele-ţintă prin intermediul fragmentului Fc (cap. 4); aceste celule, prin degranulare, eliberează aminele vasoactive (histamina, S.R.S.A., serotonina, bradikinina etc.), răspunzătoare de apariţia simptomelor la nivelul organului de şoc (cap. 7). Eliberarea mediatorilor chimici este declanşată fie prin modificări structurale în molecula însăşi de IgE, după unirea cu antigenul, fie prin modificări ale adenilciclazei din membrana celulară, de fapt modificări ale sintezei AMP-ului ciclic.

Testarea cutanată diferenţiată (ca şi testele de provocare bronşică) a dat rezultate diferite. Astfel, Voorhorst (1970) a găsit IDR pozitive mai

Scanned with OKEN Scanner

ales la extractul de *D. pteronyssimus*. Alţi autori le întîlnesc la *D. culinae*; probabil că există unele diferenţe de la ţară la ţară şi probabil de la un extract alergenic la altul.

În timpul hiposensibilizării la praful de casă sînt observate două efecte distincte : o creştere a IgE din ser, în prima parte, şi o scădere netă apoi, rămînînd totuşi valori uşor superioare celor ale normalului; pe de altă parte, apariţia anticorpilor blocanţi („protectori") IgG, care se deosebesc cu greu de anticorpii precipitanţi. Dacă se va dovedi că praful de casă poate produce şi hipersensibilitate la tip III se vor pune probleme dificile.

Polenul este în acelaşi timp alergen de mediu geografic şi încă alergen unic şi relativ puternic.

Alergenul polen, cunoscut de cel puţin 150 de ani, este primul cu care s-au efectuat teste cutanate oftalmice şi nazale. Progresele cele mai însemnate s-au realizat însă în două perioade :

1, în jurul anilor 1920—1940, cînd Thommen a formulat postulatul că pentru a fi alergogen, polenul trebuie să conţină un excitant specific al febrei de fîn, să fie în cantitate mare, să fie anemofil şi plantele care-l produc să fie larg distribuite. În aceeaşi perioadă, Durham (1956) a introdus o metodă simplă pentru numărarea granulelor de polen atmosferic; se ştie astăzi că sînt necesare 8 unităţi de polen (inhalate în 24 de ore) sau 150—300 de granule/cm² pentru apariţia simptomelor febrei de fîn.

Se cunosc astăzi 4 grupe de polenuri alergogene : 1) polenul de *Ambrosia* (17—19 μ în diametru), dominant în unele state din S.U.A., Canada, Mexic şi Cuba, care produce îmbolnăviri în lunile august (sfîrşit), septembrie şi octombrie; 2) polenul de graminee sălbatice (poacee) : *Poa pratensis* şi *P. annua*, *Dactylis glomerata*, *Cynodon dactilon*, *Phleum pratensis*, *Festuca* etc. (20—30 μ diametru), dominant în unele state din S.U.A. şi Europa continentală, care produce îmbolnăviri între 10 mai şi 20 iulie (cu o mare perioadă polinică între 10 iunie — 10 iulie); 3) polenul de *Parietaria officinalis* (16—19 μ diametru), alergogen pentru zona mediteraneană; 4) polenul de *Artemisia* (20—22 μ diametru), pentru Europa continentală. În România sînt importante polenurile de poacee, *Artemisia* şi unele polenuri de arbori (*Populus*, *Tilia*). Polenurile de arbori, chiar în cantitate de peste 700 granule/cm², sînt puţin alergogene, deşi nu s-a spus totul despre ele. Numărul bolnavilor care sufăr de polinoză (febră de fîn şi astm bronşic) depăşeşte, în zona temperată, 5 — 6 000 000, dintre care jumătate în S.U.A.

2, Cel de-al doilea progres s-a realizat după anul 1958 (mai ales după 1960), de cînd este mai bine cunoscută chimia polenului; în anul 1946 se considera că polenul este „un compus nedializabil, ce conţine azot şi sulf şi un complex polipeptidic natural.

Cercetările cele mai interesante aparţin însă lui King şi colab. (1967), care au izolat din polenul de *Ambrosia* o proteină globulară, cu G.M. 37 800, denumită antigen E, şi un al doilea alergen, denumit antigen K; toate studiile de confirmare a anticorpilor cutansensibilizanţi (IgE), efectuate de Ishizaka, au utilizat antigenul E. Mai trebuie amintit şi faptul că Goodfriend şi colab. au izolat o fracţiune, denumită Ra—5, puternic alergizantă, din ambrozia mică, şi că Malley a izolat un alergen comun în polenul de graminee, cu G.M. între 14 000 şi 40 000. Purificarea excesivă a alergenului polen îl face să-şi piardă o parte din alergenitate —

Scanned with OKEN Scanner

se pare că legătura N-glicozidică are o mare importanţă de structură şi că lizina ar acţiona ca o substanţă intermediar imunogenică, pentru a forma molecula „template". Se cunosc reacţii încrucişate, între polenurile aceleiaşi grupe botanice şi între polenul de poacee şi ingesta de alimente din acelaşi grup; pentru un alergolog avizat însă, reacţiile încrucişate nu au probleme prea greu de rezolvat.

Se cunosc de asemenea îmbolnăviri localizate (alergie respiratorie superioară, alergie bronşică şi chiar dermatită) cu acelaşi alergen polinic, la persoane diferite; în cantitate foarte mare însă, alergenul polen poate produce simptome pe tot arborele respirator şi chiar şoc anafilactic (de ex.: utilizarea de doze prea mari la hiposensibilizare).

Se admite astăzi că subiecţii atopici ar avea o permeabilitate crescută a mucoasei nazale şi că „lizozomul secreţiilor nazale ar dizolva" granulele de polen; de aici însă, drumul urmat de antigenul polen pînă la apariţia anticorpilor IgE nu este bine cunoscut, nici chiar după cercetări cu izotopi radioactivi.

Incubaţia polinozei este cunoscută numai din 1960, de la cercetările minuţioase ale lui Fine şi Abram (1971); sînt necesare 1—9 sezoane (pentru polenul de *Ambrosia*), ca să poată apărea sensibilizarea. Sensibilizarea la polen de *Ambrosia* este puternică şi durabilă; bolnavii care întrerupseseră contactul cu acest alergen pentru mai mult de 10 ani, la reîntoarcerea în S.U.A. au prezentat din nou acelaşi sindrom.

Febra de fîn şi astmul polenic se preced într-o proporţie cvasiegală (cercetări minuţioase pe grupuri de studenţi), deci sensibilizarea poate începe respirator superior sau inferior.

Fungii atmosferici sînt consideraţi ca alergeni abia de 10—15 ani, deşi cercetările în acest sens începuseră încă din a treia decadă a secolului (Leeuwen); ca şi pentru polen, studiile au întîrziat deoarece a fost nevoie să se creeze o subspecialitate — alergia fungică — reprezentată de către alergologi şi fitopatologi. Alergia are o incidenţă de 8—20% (Popescu, 1969; Prince, 1963); variaţiile ţin de condiţiile biologice şi atmosferice, care diferă de la ţară la ţară sau, mai ales, de la continent la continent şi de utilizarea unor extracte fungice, bine purificate şi specifice.

Preocupările specialiştilor s-au axat pe 3 linii de cercetare. Prima se referă la studiul fungilor atmosferici, efectuat în culturi cu diverse medii; se ştie că pentru Europa fungul atmosferic dominant este *Cladosporium hormodendron* (Van der Werff, 1958; Vallery-Radot Pasteur şi colab., 1963; Popescu, 1969), urmat de *Alternaria*, *Penicillium* sau *Fusarium*; pentru S.U.A. şi India, fungul dominant este *Alternaria* (Prince, 1963), urmat de *Cladosporium* şi *Penicillium*. Cea de-a doua linie de cercetare se referă la studiul fungilor din casele astmaticilor; variaţiile sînt foarte mari, dominînd fie *Penicillium*, *Aspergillus*, *Pullularia* sau chiar *Merulis lacrimans*, fie actinomicetele. Ţinînd seamă chiar numai de această enumerare, observăm că majoritatea fungilor alergogeni aparţin grupului denumit „fungi imperfecţi" (dematiacee, moniliacee). Ultima linie de cercetare se referă la prepararea de alergene fungice, cu un mare grad de purificare şi, legat de aceasta, descrierea unui nou tip de astm şi anume astmul cu precipitine (*Aspergillus*, termoactinomicete etc.).

Alergia fungică, identificată prin testare cutanată, teste de provocare bronşică şi numărătoarea coloniilor medii speciale—primele două

fiind considerate ca modificări imune de tip atopic — capătă acum o nouă dimensiune şi anume alergia fungică cu anticorpi precipitanţi; numărul cazurilor publicate nu este mare, dar continuă să crească. Trebuie amintite şi „alveolitele alergice extrinsece" (cap. 14).

Peri, epiderme de animale şi pene sînt considerate astăzi rareori alergenice; la cîine sînt alergizante scvamele, la pisică saliva care îmbibă blana, la iepure perii însăşi. A fost mai bine studiat alergenul păr de cal, cu G.M. 34 000, conţinînd o serie de acizi aminaţi comuni cu cei ai albuminei serului de cal, deci cu posibilitate de reacţie încrucişată.

Alergenii principali din alergia indusă sînt de mai multe tipuri:

Alergenii injectanţi, deşi mai importanţi pentru sensibilizarea „atopică" decît pentru cea indusă, reprezintă substanţe farmacologic active la persoane normale cu care n-a existat însă un contact obişnuit („natural"). Din punct de vedere chimic şi imunologic se ştiu puţine despre alergenii medicamentoşi (injectanţii îi cuprind mai ales pe aceştia). Abia în ultimii 4—5 ani s-au analizat alergenii proveniţi din penicilină, probabil cel mai însemnat alergen medicamentos.

Nu se ştie dacă streptomicina este alergizantă prin toată molecula ei sau prin produşii de degradare; de asemenea nu este clar dacă aspirina (al treilea medicament alergen, ca incidenţă) este un alergen adevărat. Alergia la ACTH sintetic este rară.

Sensibilizarea prin vaccinuri este cunoscută de multă vreme. Dacă se iau unele precauţii, reacţiile alergice după administrarea de vaccinuri pot deveni rare. Mai frecvente sînt reacţiile nealergice; probleme dificile pun copiii, bătrînii şi femeile cu sarcină. Se cunosc reacţii alergice la vaccinuri bacteriene, haptene şi antigene din mediul de cultură, vaccinuri virale şi ricketsiene, antigene din embrion de cultură şi ţesuturi de cultură, inactivatori etc. (tabelul nr. 21).

Tabelul nr. 21

Antigene şi haptene din vaccinuri (după Untracht, 1960)

Vaccinuri bacteriene	Vaccinuri virale şi ricketsiene
Proteine bacteriene Endo- şi exotoxine Toxoizi	a) Proteine virale sau ricketsiene toxice
Antigene şi haptene din: mediu de cultură peptonă proteoză urme de ser de cal	b) Antigene derivate din gazdă: albuş şi gălbenuş de ou (embrion pui) ţesut embrion pui ţesut cerebrospinal ţesut renal (maimuţă) urme de ser de cal
	c) Antigene derivate din bacteriostatice: penicilină, streptomicină, polimilină etc. d) Antigene derivate din antiseptice: parahidroxibenzoat, roşu fenol etc.

Medicamentele din grupul aromaticelor, cu G.M. între 200 şi 500, pot produce fotosensibilizare; între ele se citează tiazidele, sulfamidele, clorpromazina, dimetilclortetraciclina, griseofulvina, clorpropamida (admi-

nistrate *per os*) şi acidul aminobenzoic (ca topic). După absorbţia unui foton de energie (U.V. 3 800 — 4 000 Å), compuşii intră în fotoactivare, transferă energia celulelor adiacente, formînd peroxizi, radicali liberi şi căldură; rezultatul final: eritem, edem şi veziculaţia ţesuturilor expuse.

Alergenii profesionali nu fac decît parţial obiectul preocupării de faţă; sînt cunoscute alergizările la făină, praf de moară, cafea, gumă arabică, lemn exotic, substanţe chimice cu moleculă mică şi ricin etc. Nu este cunoscut „alergenul propriu-zis" din numeroasele substanţe enumerate. Freedman şi colab. credeau că acidul clorogenic, un compus fenolic cu greutate mică şi care se găseşte în: cafea, ricin, portocale, mere, cireşi, cartof alb, tabac etc., ar reprezenta alergenul adevărat. În 1966 însă, Spied şi Barronk (1966) au preparat un alergen din ricin, aproape pur, denumit CB—1A, un complex de proteine cu greutate moleculară mică, destul de specific şi foarte puternic (teste cutanate pozitive în diluţie 1/2 000 000).

Ingestanţii sînt incriminaţi deseori din etiologia sindroamelor alergenice digestive sau cutanate; este cunoscută alergia faţă de β-lactoglobulină, cu anticorpi IgE crescuţi, dar şi cu anticorpi precipitanţi. Sensibilizarea adevărată trebuie diferenţiată de intoleranţa la lactoză. Sînt cunoscute, de asemenea, alergia „anafilactică" la albuş de ou, care poate avea caracter familial (evoluează mai obişnuit cu anticorpi anafilactici decît cu anticorpi IgE) şi alergodermia acută la ingeste de peşte, raci, căpşuni, fragi etc.

În tabelul nr. 22 se enumeră alergenii cunoscuţi.

Tabelul nr. 22

Compoziţia chimică, greutatea moleculară şi diluţia alergenilor

Alergen	Plante (produs)	Compoziţie, greutate moleculară	Diluţia activă
Compus E	polen *Ambrosia*	37 800	3×10^{-6}
CB-1A	*Ricinus communis*	proteine polizaharide	2×10^{-6}
Fracţiune nehemaglutinantă	polen *Phleum pratensis*	15 000	10^{-12}
Extract *Aspergillus niger*	fung atmosferic	40 000	
Acid benzil-peniciloic, benzilpenicilinic	penicilină	haptenă	1×10^{-6} (conjugat BPL)
Fracţiune 25—29 acizi aminaţi	ACTH	—	—
Dermatophagoides	Praf de casă	—	—
β-lactoglobulină α-lactoglobulină (caseină)	lapte	—	—

Diagnosticul „Atopiei". Determinarea naturii alergice posibile a unor boli sau sindroame necesită utilizarea unor variate mijloace de diagnostic; între acestea, poate că primul ca importanţă, este fişa de observaţie alergologică: anamneza amănunţită, antecedentele eredocolaterale şi personale, alergice şi alergizante şi examenul clinic obiectiv. Anamneza trebuie reluată ori de cîte ori este nevoie şi, după cum spune Gardiner, „cu inventivitatea lui Sh. Holmes"; prin prisma ei vor fi interpretate toate datele obţinute prin procedeele de laborator obişnuite sau neobişnuite. Celelalte mijloace de diagnostic cuprind: testarea cutanată, testul de provocare cu alergeni specifici, cercetarea eozinofiliei sanguine, din secreţia nazală şi bronşică, jurnalul alimentar şi dietele de eliminare şi, uneori, terapeutica specifică etc.

a) *Testarea cutanată* îşi propune să pună în evidenţă, în prezenţa alergenului specific, anticorpii cutansensibilizanţi; practic vorbind, ea reprezintă o „alergie indusă locală". Pentru a avea valoare, este necesar mai întîi ca testarea cutanată să se facă cu extracte alergenice relativ pure şi în al doilea rînd, rezultatul să fie interpretat corect şi critic, în raport de toţi factorii care ar putea să le influenţeze. Obişnuit se utilizează următoarele tehnici: scarificare, înţepătură, intracutan, oftalmică şi nazală. Metoda de lucru trebuie diferenţiată după vîrsta bolnavului, gravitatea bolii şi modul de preparare a alergenului.

Rezultatele testării cutanate sînt nevaloroase (sau interpretabile), dacă martorul (soluţie Coca) este pozitiv şi dacă au fost administrate cu minimum 7 zile mai înainte (uneori chiar mai mult) cortizonice, antihistaminice de sinteză, ACTH. Merită de asemenea de atras atenţia asupra a două posibilităţi şi anume: a) bolnavi, probabil alergici-atopici, dar cu semne de laborator de hipo- (sau a-) gammaglobulinemie; Paterson şi colab. (citaţi de Frick) au avut în observaţie bolnavi cu: astm bronşic, febră de fîn, dermită atopică şi hipogammaglobulinemie accentuată şi n-au obţinut niciodată teste cutanate imediat pozitive (papulă sau eritem), deşi uneori obţinuseră transfer pasiv pozitiv; toţi bolnavii au dezvoltat însă hipersensibilitate de tip tardiv; b) bolnavi suferind de boli de sistem, la care s-au administrat citostatice sau Rx-terapie, au mai totdeauna teste cutanate, de tip imediat, negative. Probleme dificil de interpretat mai pun două feluri de rezultate şi anume: teste cutanate fals negative şi teste cutanate fals pozitive. În ceea ce priveşte primele, care intră în discuţie în cazuri de astm epidemic (ricin de exemplu), se întîlnesc într-o proporţie de circa 8% (Păun şi Popescu, 1972); utilizînd diluţii serial crescînd, incidenţa poate fi redusă, dar nu anihilată. Testele cutanate fals pozitive într-o incidenţă mai mare de circa 12—15% sînt interpretate ca semn al alergiei subclinice sau latente, interpretare adevărată pentru unii bolnavi, care vor prezenta curînd un sindrom alergic major. Testele cutanate efectuate cu alergeni alimentari sînt deseori negative, iar atunci cînd sînt pozitive sînt în număr prea mare şi, deci, greu de interpretat. Testele cutanate pozitive, cu alergeni microbieni, nu fac decît rareori obiectul interpretării în sindroamele alergice-atopice.

Rămîn extrem de valoroase, cel puţin ca orientare, testele cutanate pozitive pentru: polen, fungi atmosferici, praf de casă (dermatofagoizi), medicamente (penicilină, cu bateria de teste indicate) şi ricin, dacă sînt citite la 10—20′ şi sînt efectuate cu extracte alergenice de bună calitate;

Scanned with OKEN Scanner

acestea se întîlnesc însă numai într-o proporţie de 50—70% din alergiile respiratorii.

La sfîrşit merită a discuta despre teste cutanate pozitive la o populaţie randomizată; subiectul, cu concluzii controversate, a fost reluat de Whitcomb (1971), pe studenţii unei universităţi selecţionaţi prin randomizare. Autorul întîlneşte deseori t.c. pozitive (a lucrat cu 21 de extracte alergenice). Reluînd însă atent cercetarea constată că la marea majoritate existau antecedente personale alergice şi că, de fapt, numai la 4% t.c. erau pozitive, fără o explicaţie sigură; aceştia ar constitui „populaţia atopică" potenţială şi din această cauză se poate afirma doar că *testele cutanate pozitive singure nu reflectă obligatoriu alergia clinică activă.*

b) *Testul de provocare* se referă la testul de provocare bronşică (cap. 14), fiindcă cel digestiv este încă subiect de controverse. Sigur că apar unele discordanţe între testele cutanate şi testul de provocare bronşică (ambele sînt procedee imunologice, adresîndu-se unirii dintre antigen şi anticorpi cutansensibilizanţi).

Cercetarea eozinofiliei sanguine, din spută şi secreţia nazală. Se ştie de foarte mulţi ani că eozinofilia apare la bolnavi cu alergoze, dermatoze şi infecţii parazitare. Rolul eozinofilului nu este bine cunoscut, dar este aproape sigur că eozinofilia poate fi mediată prin procese imunoalergice. Basten şi colab. (1970) au produs mare eozinofilie după administrarea (per os, i.v., i.p.) de *Trichinella spiralis* şi larvele respective (dar nu cu omogenate); readministrarea produce o mare eozinofilie, prin răspuns imun secundar. Dacă şobolanii erau timectomizaţi, la naştere, nu apărea eozinofilie. Capacitatea de a dezvolta eozinofilia a fost restaurată prin administrare de măduvă osoasă şi limfocite. Se presupune deci că există o relaţie între eozinofilie şi limfocitele timodependente. Cum acţionează limfocitele? Pare că limfocitele au rol în faza inductivă a eozinofiliei; faza proliferativă este influenţată numai de administrarea de metotrexat sau ciclofosfamidă. S-a incriminat un factor chemotactic pentru eozinofile, care nu este complementul. Ce rol au complexele antigen — anticorp? Deocamdată se ştie doar că apariţia eozinofiliei şi reacţia imună antiparazit sînt fenomene separabile; se mai ştie (după utilizarea de tehnică Millipore şi model de anafilaxie ţesut pulmon de cobai) *că anticorpul care mediază factorul chemotactic face parte din IgG1 nu (IgG2 şi nici IgE)* şi este selectiv pentru eozinofil (Cohen şi Ward, 1971).

În aceeaşi ordine de idei trebuie amintit despre creşterea numărului de *bazofile* prin tehnica ferestrei cutanate utilizată *în hipersensibilitatea tardivă* (fereastra cutanată pentru alergia medicamentoasă şi eozinofilie poate fi periculoasă).

Eozinofilia sanguină se socoteşte de la 400 de elemente/mm³, eozinofilia în secreţii de la 15% şi bazofilia tisulară între 5 şi 29%.

Procedeele imunologice dau ca valori normale (după Hiland): IgG = 800—1600 mg%, IgA=170—410 mg%, IgM=6—15 mg% (tehnica Mancini), IgE=5—1 000 mg% (media 200 mg%) (radioimunosorbant test).

Este deseori utilă cercetarea cantitativă şi calitativă a complementului seric (pentru anafilaxie şi mai ales în edemul angioneurotic familial). În sfîrşit, este de neconceput o cercetare a bolnavilor alergici fără studiul polenului şi fungilor atmosferici, atît pentru diagnostic, cît şi pentru tratament.

Scanned with OKEN Scanner

Tratamentul atopiei. Terapeutica sindroamelor atopice ar trebui să urmărească modificarea terenului constituţional „atopic"; acest deziderat este greu de atins, deşi sînt autori care au comunicat despre negativarea (de durată) a testelor cutanate cu alergeni specifici şi revenirea la normal a pragului de reactivitate bronşică la acetilcolină, prin hiposensibilizare specifică, în astmul bronşic la copil. Pînă la confirmarea acestor rezultate, vom discuta numai despre :

a) *Măsuri generale.* Aproape toţi alergologii sînt de părere că mijloacele de tratament cele mai bune se referă la prevenirea bolii sau măcar a acceselor ulterioare; dintre acestea fac parte : *îndepărtarea alergenului*, ceea ce se poate face uneori în alergozele profesionale, sau *scoaterea din mediul cu alergeni*, imposibil de realizat în cazul alergenilor polinici şi fungici atmosferici. Merită a fi amintită (nu este un tratament imunalergic) evitarea poluării atmosferice sau măcar oprirea lucrului şi scoaterea din mediu a lucrătorilor atunci cînd poluarea a ajuns la un grad prea ridicat, ceea ce se poate realiza, dar este costisitor. Întrucît uneori infecţiile respiratorii preced apariţia alergizării („deschide poarta alergizării"), s-au propus tratamente medicamentoase (sulfamide, antibiotice) preventive. S-a mai discutat de asemenea despre regimurile speciale pentru mamele alergice, dar se ştie puţin despre formarea anticorpilor în perioada de sarcină şi despre dietele de eliminare pentru copilul născut din părinţi alergici.

b) *Tratamentul specific* ar consta în primul rînd în *evitarea contactului cu alergenul cauzal.* Atunci cînd este vorba despre un singur alergen, evitarea se poate realiza; de cele mai multe ori însă sînt incriminaţi mai mulţi alergeni sau, în timp, se ajunge la polisensibilizare, sau alergenul se prezintă „sub aspect deghizat". Toate aceste motive au făcut pe unii alergologi să propună ca începerea tratamentului să se facă prin schimbarea locuinţei, pentru o perioadă de 10—14 zile, sau prin pregătirea, în acelaşi domiciliu, a unei camere bine amenajate, sau să se recurgă la „camere speciale fără alergeni", procedeu costisitor şi de prea scurtă utilizare; vom aminti numai despre aşa-numitele „preparate nealergogene" : lapte hipoalergenic, substituenţi de lapte, lapte „praf" etc.

Tratamentul specific constă, în al doilea rînd (dar pentru cei mai mulţi bolnavi sigur alergizaţi), în *hiposensibilizarea specifică.* Toate tratamentele nespecifice (sigur deseori utile) duc la ameliorarea sindromului clinic, dar nu „conduc toleranţa" subiectului bolnav spre normalizare. Unul dintre cele mai remarcabile fapte de observaţie, în clinică şi laborator, este acela că sindromul clinic poate fi temporar oprit în evoluţia lui, dar fără a aboli starea de hipersensibilizare (preferăm a utiliza aici termenul de hiposensibilizare specifică în locul celui de desensibilizare, care ni se pare prea pretenţios) prin hiposensibilizare specifică.

Toleranţa pentru alergen, la om sau animalul sensibilizat, se poate realiza pe diferite căi (Swineford, 1972) :

a) Desensibilizare activă

1, a se injecta doze subreactive de antigeni;

2, a se expune, repetat, subiectul la administrare de antigen (în cantitate mică) în aerosoli;

3, imunizare cu antigen injectabil etc.

b) Desensibilizare pasivă

Specifică: directă (prin injectare de imunoglobuline specifice) şi indirectă (prin neutralizarea gradată a antigenului circulant cu anticorpi specifici).

Nespecifică: prin injectare de gammaglobulină normală sau de ser. Swineford constată că este nevoie de circa 5 ml gammaglobulină (crudă) pentru a preveni reacţia anafilactică la un cobai de 250 — 300 g; gammaglobulina acţionează asupra antigenului, probabil, în competiţie cu anticorpii sensibilizanţi. Acelaşi autor este de părere că numai un anumit tip de IgG (tipul A, B şi AB) induce desensibilizarea şi numai în anumite condiţii (să nu fi fost îngheţat, să nu fi fost încălzit 2 h la 60°C şi să nu fi fost adus la un pH de 0), ceea ce îl duce la ideea că IgG ar cuprinde un factor specific de desensibilizare.

Care sînt caracteristicile principale în hiposensibilizarea realizată în sindroamele clinice din hipersensibilizarea de tip anafilactic-atopic? Deocamdată nu se pot face decît ipoteze, în primul rînd fiindcă hiposensibilizarea activă din alergia umană pare să difere de cea din alergia experimentală. Antigenul hiposensibilizant (polen, praf de casă, fungi atmosferici etc.) stimulează, aparent, o producţie mai mare de anticorpi, în primele 10—20 de zile. Noon (citat de Cooke, 1947) şi apoi Freeman (citat tot de Cooke) au introdus, în urmă cu peste 60 de ani, hiposensibilizarea în alergozele umane; Sheldon şi Lowell (1953) şi mulţi alţii au arătat, prin studii dublu-oarbe, că există o diferenţă statistic semnificativă între bolnavii trataţi prin hiposensibilizare şi cei netrataţi. În fond însă, hiposensibilizarea, locală sau sistemică, este tranzitorie şi adesea este vorba despre toleranţă crescută faţă de antigeni, dar nu despre o toleranţă absolută.

Cooke (1947) a descoperit „anticorpii blocanţi", care apar în cursul hiposensibilizării; ei sînt imunoglobuline G (IgG). Loveless credea că anticorpii blocanţi „leagă sau neutralizează reaginele şi că previn deci reacţia dintre antigeni şi anticorpii cutansensibilizanţi". Pînă de curînd se credea că aceasta este o afirmaţie empirică. Gordon şi colab. (1972) studiază printr-un studiu dublu-orb corelaţia anticorpilor specifici (făcuţi fluorescenţi) şi simptomatologia în timpul tratamentului cu polen de *Ambrosia*. Autorii utilizează pentru hiposensibilizare extractele piridin alum precipitate de *Ambrosia* (allpyral), timp de două sezoane polinice, la 60 de bolnavi trataţi, în comparaţie cu 60 de bolnavi netrataţi; polenul de *Ambrosia* era expus la 0,1 cm^3 antiglobulină IgG, IgA, IgM şi IgE conjugate cu fluoresceină. Rezultatele imunologice ni se par extrem de interesante: IgG creşte semnificativ (aici se includ anticorpii blocanţi), IgA cresc moderat, IgM rămîn aproape nemodificate şi IgE descresc (semnificativ); aceste rezultate se obţin însă numai dacă bolnavii erau trataţi înainte de sezonul polinic, timp de 24 de săptămîni. Concluzia ce se impune este aceea că: „hiposensibilizarea, efectuată un timp suficient, neutralizează reagina şi previne reacţia dintre antigeni şi a.c.s.".

Într-o altă cercetare, referitoare la hiposensibilizarea la praful de casă, Maeda (1971) ajunge la concluzii relativ asemănătoare:

a) anticorpii blocanţi (IgG) se combină rapid cu antigenul şi inactivează antigenul, chiar în prezenţa reaginei;

Scanned with OKEN Scanner

b) titrul anticorpilor serici (prin P.C.A. şi hemaglutinare pasivă) se corelează numai cu titrul anticorpilor blocanţi;

c) anticorpii blocanţi cresc odată cu dozele terapeutice, dar numai pînă la doza de 1 000 — 1 500 ng N;

d) producţia de anticorpi blocanţi este inhibată de corticoizi suprarenali, în doză şi durată mare;

e) titrul reaginei scade numai după 20—40 de săptămîni de hiposensibilizare.

Am putea admite că s-a găsit, în sfîrşit, explicaţia hiposensibilizării specifice, adică creşterea IgE şi creşterea anticorpilor blocanţi (IgG); Brofenbremmer crede însă că rolul principal îl au enzimele tisulare, „activate" (prin hiposensibilizare), care vor face „digestia parenterală" a antigenelor sau complexelor antigen — anticorp. Mai mult încă, este de presupus că în hiposensibilizare intervin şi alţi factori în afară de anticorpii blocanţi. Două observaţii de laborator pun încă probleme dificile în legătură cu explicaţiile posibile ale desensibilizării: prima se referă la desensibilizarea nespecifică temporară (pielea rămîne „desensibilizată" cîteva zile, după un răspuns imediat extrem de sever, la un alergen); a doua se referă la desensibilizarea încrucişată (răspunsul cutanat este mic sau nul faţă de doi alergeni, deşi se acţionează numai cu unul din ei). Dacă nu admitem apariţia unor alţi factori care să intervină în sensul nonreactivităţii şi nu al desensibilizării este imposibil să explicăm faptele amintite.

În concluzie, sînt de citat două opinii, care încearcă să sintetizeze toate cercetările. Prima este aceea a lui Pruzansky şi Feinberg (citaţi de Swineford, 1972), care cred că o porţiune „specifică" a gammaglobulinei normale poate inhiba anafilaxia, dar că gammaglobulina (alte fracţiuni proteice nu au acest rol) devine competitivă numai cînd este capabilă să se fixeze la ţesuturi. Cea de-a doua opinie este a lui Stanworth (citat de Swineford, 1972), care consideră că anticorpii cutansensibilizanţi se leagă de celule-ţintă prin porţiunea F_c, porţiunea F_{ab} rămînînd liberă să se combine cu antigenul şi să ducă la eliberarea de anticorpi; dacă molecula de IgE poate fi dislocată de un alt fragment F_c (de ex. din IgE mielom) atunci nu apare sensibilizarea.

Ne-am oprit mai mult asupra imunologiei „hiposensibilizării" pentru că, deşi s-au făcut progrese impresionante, se vede că rămîn încă factori obscuri şi deci că „hiposensibilizarea în clinică are încă mult empirism", rezultatele fiind bune în 60—80% din cazuri.

Problematica tratamentului specific al sindroamelor imunalergice s-a complicat şi mai mult după introducerea cromoglicatului disodic şi clorfenezinei. În 1969, Altounyan afirma că răspunsul arborelui bronşic la alergeni inhalanţi se reduce după administrare (anterioară) de 1,3-bis(2-carboxycromonă-5-yloxy)-hidroxipropan (sare sodică). Medicamentul care s-a dovedit a fi extrem de util în astmul bronşic alergic şi în febra de fîn, dacă se administrează preventiv, *nu interferă cu reacţia antigen — anticorp, ci doar în degranularea mastocitelor* şi deci eliberarea de histamină (nu însă şi eliberarea de SRSA).

Lichtenstein (1970) a prezentat un nou medicament: *Hetrazan (clorfenezin), un antifilarial, care s-a dovedit activ în reducerea eliberării de histamină şi SRSA din leucocite.*

Tratamentul sindroamelor atopice dispune astăzi de:

1, eliminarea alergenului sau ieşirea din mediul cu alergeni;

2, hiposensibilizare specifică;

3, medicamente care inhibă eliberarea de substanţe farmacologic active, la sfîrşitul reacţiei antigen — anticorp.

Sigur că nu am inclus aici nici unul din medicamentele simptomatice, care nu acţionează printr-un mecanism imunoalergic.

D. SINDROAMELE ALERGICE „ATOPICE"

Într-o statistică asupra bolilor cronice (din iulie 1959 pînă în iunie 1961), Barkin şi Mc.Govern au găsit la copil un procent impresionant pentru bolile alergice şi anume 32,8% (astm bronşic 1 595, febră de fîn 1 518, alte alergoze 1 485 etc. din 13 996); mai severă încă este consecinţa medico-socială, deoarece din totalul de absenţe şcolare (33 milioane zile), circa 7,5 milioane zile se datorau astmului bronşic. Procentul nu este atît de mare la adult, deşi rămîne destul de ridicat.

Am prezentat aceste date doar pentru a atrage atenţia asupra gravităţii sociale a bolilor alergice; în cele ce urmează ne vom ocupa de sindroamele alergice „majore", în special din punctul de vedere al mecanismului imunoalergic.

1) ASTMUL BRONŞIC

Definirea sindromului complex care este astmul bronşic rămîne încă de domeniul viitorului. Cei mai mulţi autori consideră astmul bronşic ca un sindrom caracterizat prin hiperreactivitate bronşică marcată, care poate „trece" singură sau prin tratament şi se manifestă clinic prin dispnee paroxistică şi „wheesing" (respiraţie şuierătoare substernală). După această definiţie, astmul bronşic poate fi încadrat, împreună cu bronşita cronică şi emfizemul pulmonar, în bronhopneumopatia cronică obstructivă. În ultimii ani se încearcă redefinirea astmului bronşic. Sanerkin consideră astmul bronşic ca „o bronşită alergică", diferenţiindu-l total de bronşita catarală cronică; probabil că o asemenea definiţie este prea restrînsă, dar are meritul de a discuta despre astm, din punct de vedere etiopatogenic, ceea ce corespunde, într-un moment dat al evoluţiei, la 40—70% din cazuri. Noi ne apropiem mai mult de concepţia lui Tomasevsky şi Pratt (1967), după care un număr mare din astmurile bronşice au o individualitate aparte, dar pot exista intricări cu bronşita cronică sau emfizemul pulmonar obstructiv.

Chiar dacă am considera un număr de astmuri bronşice ca avînd etiopatogenie alergică, trebuie să nu omitem ideea că „problema astm" are numeroase semnificaţii. Nu vrem să spunem că astmul bronşic nu este un sindrom imunoalergic deseori, ci doar că este nevoie de o strînsă colaborare între alergolog şi medicul care consultă primul bolnavul astmatic (internist, pediatru, dermatolog, ORL-ist, psihiatru etc.). Se recunosc

Scanned with OKEN Scanner

următoarele „grupe" de astmatici, din punctul de vedere al etiologiei şi patogeniei imunoalergice :

a) astm bronşic cu anticorpi cutansensibilizanţi sau astmul bronşic „atopic" propriu-zis ;

b) astm bronşic cu anticorpi precipitanţi ;

c) astm bronşic prin sensibilitate de tip „tardiv" (neclar) ;

d) astm bronşic prin mecanism „trigger".

Se vede că astmul bronşic poate fi încadrat în cel puţin 3 tipuri, din clasificarea Gell-Coombs : tip I (anafilaxie — atopie) ; tip III (fenomenul Arthus) şi tip IV (sensibilitate tardivă) ; mai bine cunoscute sînt însă primele două tipuri.

a) *Astm bronşic alergic cu anticorpi cutansensibilizanţi.* În concepţia lui Coca (1931), astmul bronşic era încadrat împreună cu rinita periodică (uneori şi cu cea aperiodică) şi dermita atopică în atopie ; completările ulterioare aduse de Frick (1966) şi mai ales cele ale lui Ishizaka dau azi acestui concept o bază imună (pentru noi rămînînd însă încă unele lacune). *În astm bronşic „atopic"* se încadrează bolnavii cu dispnee paroxistică şi „wheezing" (clinic), cu antecedente personale sau eredocolaterale alergice şi cu teste cutanate cu alergeni specifici pozitivi imediat (papulă-eritem) (deseori şi teste de provocare bronşică cu alergeni pozitive). Alergenii care intervin sînt (în ordine descrescîndă) : praf de casă (dermatofagoizi), polen, fungi atmosferici, alergeni profesionali (ricin, sericină etc.), pulberi organice şi medicamente etc. ; toţi aceşti alergeni se găsesc incluşi într-o trusă de alergolog. După prepararea alergenilor din ce în ce mai puri, descoperirea cea mai importantă, pentru astmul lor atopic a fost imunoglobulina E (IgE). Cercetările IgE în astmul bronşic au fost începute de Johansson (1967), care constată IgE constant crescută în astmul bronşic atopic, peste 250—500 ng/ml (media fiind sub 250 ng/ml). Leonardy şi Peacock (1972) găsesc creşteri ale IgE între 500 şi 590 ng/ml, 'dar nu în constanţă absolută. Nouă ni se pare mai adevărată opinia că în cele mai multe astmuri bronşice atopice (dar nu în toate), IgE este crescută peste media normalului, dar creşterea nu este atît de semnificativă ca în dermita atopică.

Tipul de astm atopic se tratează prin hiposensibilizare specifică (rezultate bune în 60—85% din cazuri), cromoglicat de Na (4 capsule) administrat preventiv şi curativ (cromoglicatul de Na intervine numai în oprirea degranulării mastocitelor, adică după ce a avut loc interacţiunea antigen — anticorp) şi hetrazan (neconvingător), medicament cu rol în eliberarea histaminei (poate şi a serotoninei) la bolnavii atopici ; numai dacă aceste tratamente nu reuşesc (cu asociere frecventă de bronhodilatatoare) se administrează cortizon sau ACTH.

Una dintre cele mai interesante probleme o pune astăzi asocierea astmului bronşic „atopic" cu creşteri ale IgA sau a astmului bronşic cu frecvente infecţii bronşice şi „reducerea marcată" a IgA. Pentru prima categorie au făcut comunicări Sly şi Heimlich (1967), despre bolnavi (copii) cu astm bronşic, statură mică şi gemeni identici ; important este faptul că în antecedentele eredocolaterale (mamă, bunici) se găsesc constant cazuri cu astm bronşic. Cele mai scăzute cifre de IgE se întîlnesc în hipo-(a)-gammaglobulinemiei, ca în ataxie — telangiectazie şi deficienţă IgA selectivă ; au fost comunicate foarte rare cazuri de ataxie — telangiectazie

şi astm bronşic. Nell şi colab. (1972) prezintă 5 familii, cu 13 subiecţi cu deficienţe IgA şi mare incidenţă a alergozelor şi infecţiilor respiratorii.

Collins-Williams şi colab. (1972) au cercetat, pe un număr de 9 691 copii canadieni, incidenţa absenţei izolate a IgA serice şi au găsit un procent de 0,28, dar numai 0,18% (17 copii) aveau tulburări legate de această deficienţă. IgA este prezentă la naştere în cantităţi foarte mici, la 4 luni este uşor detectabilă, iar la 12 luni este uşor inferioară celei de la adult (40—400 mg%, cu o medie de 140—160 mg%). În ser se găseşte cu 11 S (2 molecule de 7 S, cu piesă secretorie), iar în secreţiile interne cu 7 S imunoglobulină. Se întîlnesc cazuri (rare) la care IgA este absentă în ser, dar normală în secreţia glandei salivare, deşi în mod obişnuit este un paralelism. Se apreciază că 1/700—1/500 copii prezintă o deficienţă izolată de IgA, asociată cu ataxie — telangiectazie, infecţii sinopulmonare recurente, malabsorbţie etc.

Au fost studiaţi 600 de copii cu frecvente infecţii respiratorii; numai la 46 se intîlneau cifre joase de IgA şi numai la 5 erau absente. Rolul exact al IgA nu este bine cunoscut; se consideră că ar juca un rol de anticorp protectiv. Este sigur doar că nu fixează complementul şi că un număr mic de subiecţi din populaţia totală nu sintetizează IgA, unii dintre aceştia prezentînd doar tulburări mici.

IgA nu are nici o relaţie (semnificativă statistic) cu hipersensibilizarea specifică, chiar dacă aceasta a fost administrată peste 12 luni; IgA are însă, relaţie (semnificativă) cu numărul infecţiilor respiratorii, ca şi cînd ar avea cu adevărat un rol protector în sistemul imun.

Alte imunoglobuline serice nu par a fi modificate în astmul bronşic netratat; Kohler şi Farr (1967) prezintă creşteri ale IgD, neconfirmate de alţii, în astmul bronşic.

Modificările anatomopatologice observate după decesul prin astm bronşic au fost considerate nesemnificative; îngroşarea şi hialinizarea membranei bazale a bronşiilor, infiltratele inflamatorii (plus eozinofile) în ţesutul bronşic, peribronşic şi în „dopurile" bronşice, mucusul excesiv în bronşii, stratul submucos şi stratul muscular bronşic îngroşate etc. luate fiecare în parte nu sînt caracteristice. Dintre semnele anatomopatologice pare că îngroşarea membranei bazale bronşice prezintă cel mai mare interes; Collerane şi colab. (1971) găsesc membrana bazală mult îngroşată (14,5μ faţă de 7 μ la normal), cu mare depunere de imunoglobulină (IgM), dar cu cantitate cvasinormală de IgE.

Connell (1971), studiind mastocitele şi eozinofilele din peretele bronşiilor, ajunge la concluzia că mastocitele sînt în număr mic (cele degranulate nu se pot pune în evidenţă) la astmaticul netratat cu corticoizi suprarenali, pe cînd eozinofilele din ţesutul bronşic sînt în număr foarte mare; o relaţie inversă se întîlneşte la astmaticul tratat cu corticosteroizi.

Ar trebui să concludem că astmul atopic evoluează cu o evidentă creştere de IgE, cu eozinofilie sanguină şi tisulară şi cu multe celule-ţintă (mastocite) degranulate; depunerile de IgM în membrana bazală a bronhiilor pune însă şi întrebarea, dacă nu intervin, într-un anumit moment (infecţii bronşice etc.), şi alte imunoglobuline.

b) *Astm bronşic cu anticorpi precipitanţi.* Pînă acum 5—6 ani, astmul bronşic era încadrat în tipul I de hipersensibilitate imediată (anafilaxie —

Scanned with OKEN Scanner

atopie). În ultimii ani s-a descris astmul bronşic prin hipersensibilitate semitardivă, tip III, în grupul fenomenului Arthus.

Molina şi colab. (1971) au comunicat 35 de cazuri de astm bronşic, la care s-au pus în evidenţă precipitine la : extract de fîn, dejecţii sau pene de păsări, lemn exotic, *Aspergillus*, pulbere de retrohipofiză etc. Este curios faptul că la aproape toţi bolnavii se întîlneşte o dublă sensibilizare : „reaginică" (cutansensibilizantă) şi prin anticorpi precipitanţi, aceasta din urmă fiind cea principală ; este vorba deci despre o creştere atît a IgG, cît şi a IgE.

Astmul este de tip mediu sau sever ; tratamentul hiposensibilizant nu dă rezultate, ci numai corticoterapia în doze medii şi mari (20—50 mg/zi) prelungită şi descrescută progresiv.

Flindt (citat de Molina) a descris astmul lucrătorilor ce lucrează cu enzime proteolitice bogate în *B. subtilis* şi cu precipitine *antibacilus subtilis*. Banaszak şi colab. (1970) au raportat cazul a 4 bolnavi, lucrători într-o casă cu aer condiţionat, contaminaţi cu actinomicete, care prezentau : febră, dispnee şi tuse, eozinofilie.

Cele mai interesante cazuri sînt cele prezentate de Slavin şi colab. (1970) şi de Adiseshan şi colab. (1971), care se referă la asocierea astmului bronşic ca sensibilizare la *Aspergillus* ; şi la aceste două cazuri este vorba despre anticorpi cutansensibilizanţi şi anticorpi precipitanţi, aşa cum scrisese deja Pepys şi colab. (1968). Dintre toate simptomele şi semnele fizice sau radiologice, mai constant apar precipitinele serice, mai ales în cele 38 de cazuri ale autorilor australieni. *Aspergillus* era fungul principal (are abilitatea de a coloniza arborele bronşic, mai mult decît mediul), dar nu singurul, el fiind urmat de : *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*.

c) *Astmul bronşic prin sensibilizare de tip imediat* este acceptat de toţi specialiştii ; el corespunde vechii nomenclaturi de astm extrinsec. Diferenţierea dintre astmul bronşic extrinsec şi cel intrinsec (tabelul nr. 23) este dificilă, cel puţin din două motive : sînt descrise astmuri bronşice extrinseci sigure, care apar după vîrsta de 55 de ani (Congres Inter-

Tabelul nr. 23

Diferenţa dintre astmul bronşic extrinsec şi cel intrinsec

Caracteristici	Astm bronşic extrinsec	Astm bronşic intrinsec
Debut	brusc, de obicei sezonier	rareori ca primă afecţiune
Vîrstă	între 3 şi 45 de ani	de obicei după 45—50 de ani
Afecţiuni anterioare	rareori	frecvent (bronşite cronice)
Leucocite Eozinofile	normale sau leucopenie de obicei peste 400/mm ^{3}	obişnuit leucocitoze, eozinofilie în jumătate din cazuri
Evoluţie Antecedente alergice	în criză sau acces frecvent	accese prelungite rareori
Teste cutanate Test de provocare bronşică	pozitive (interpretabile) frecvent	rareori rareori

asthma, Lisabona, 1968) şi sînt descrise eozinofilii importante (în sînge şi în spută) în astmul bronşic intrinsec. Dealtfel, aceste din urmă cazuri au indicaţie (este adevărat secundară) de tratament cu cromoglicat disodic, ca şi astmul extrinsec.

În general vorbind, *hipersensibilitatea de tip tardiv* (celulară, microbiană) este greu de dovedit în astmul bronşic; în două împrejurări, sensibilizarea tardivă pare a fi o realitate şi anume: sindromul Harkavy şi astmul „evolutiv" al lui Jimenez-Diaz.

Sindromul Harkavy se caracterizează prin extinderea răspunsului hiperergic vascular de la bronhii, plămîn, la alte organe: inimă-pericard, pleură, peritoneu, articulaţii, ficat şi splină. Harkavy a descris cîteva asocieri:

a) astm bronşic cu infiltrate pulmonare eozinofile migratorii, tip Löffler;

b) astm bronşic cu infiltrate pulmonare recurente, prelungite, cu anormalităţi ale electrocardiogramei; anormalităţi ale electrocardiogramei şi infiltrate eozinofilice în pleură şi pericard; anormalităţi ale electrocardiogramei şi infiltrate în pleură, pericard, peritoneu, articulaţii etc.

Harkavy a descris 21 de bolnavi, la care s-au adăugat cel puţin încă 10, cu astm bronşic sever apărut la bolnavi atopici, cu mare eozinofilie (pînă la 85%) şi leucocitoză şi cu sensibilizare microbiană în cele mai multe cazuri. Tulburările ecg au apărut la 17 din cei 21 de bolnavi; ele dispăreau odată cu ameliorarea şi reapăreau în recurentă.

Tratamentul constă în administrarea de corticoizi suprarenali şi antibiotice (unele cazuri prezentau sensibilizare medicamentoasă).

Jimenez-Diaz divizase astmul bronşic complex (secundar) în comparaţie cu cel alergic (primar), în astm implantat şi astm „evolutiv"; astmul implantat apare în cadrul unei alte boli (periarterită nodoasă etc.), pe cînd astmul „evolutiv" trece din stadiul funcţional (accese de dispnee paroxistică, fără nici o tulburare în timpul perioadelor libere) în cea de maladie permanentă. Aici se încadrează multe din astmurile bronşice greu de tratat, cu teste cutanate negative (sau prea multe pozitive) şi cu manifestare clinică cvasipermanentă. La aceşti bolnavi a fost incriminată sensibilizarea specială, cu prezenţa anticorpilor antipulmon, antimucoasă bronşică şi nazală; astmul bronşic „evolutiv" se apropie de „bolile de colagen" şi are o letalitate crescută în comparaţie cu restul astmului bronşic.

Triada astmatică (astm bronşic, polipoză nazală, sensibilizare la aspirină) a fost descrisă de multă vreme; se consideră că aproximativ 1/5 din cazurile de astm bronşic intrinsec prezintă sensibilizare la aspirină. Se crede că nu este vorba despre o adevărată sensibilizare, ci de o ideosincrazie medicamentoasă. Astmul bronşic este în general de formă severă; administrarea de aspirină (ceea ce este contraindicat) provoacă un atac de astm. Zweiman şi colab. (1968) au descris, la copilul sub 2 ani, o formă de *bronhiolită*, care evoluează cu febră şi obstrucţie bronşică („wheezing") evidentă, urmată de astm bronşic după un interval de 4—40 de luni. La copiii cu istoric familial de boli alergice şi cu eozinofilie (în sînge şi secreţie nazală-bronşică); succesiunea bronhiolită — astm bronşic era semnificativă statistic.

Scanned with OKEN Scanner

În ambele sindroame, în afară de tratamentul antiinfecţios este indicată corticoterapia.

d) Astm bronşic prin mecanism „trigger"

S-a încercat explicarea apariţiei unor cazuri de astm bronşic, după rinită sau sinuzită, prin crearea noţiunii de „area trigger" în aceste zone; ar fi un fel de continuare a teoriei „astmului reflex". Nu este clar rolul zonelor "de trăgaci" în patogenia astmului. Klotz şi Moeller (1971) comunică 5 cazuri de *astm bronşic, apărute la bolnavi cu hernie de hiat*, prin mecanism "trigger" şi anume reflexul gastro-esofago-bronşic. Reluîndu-se comunicările anterioare s-a aflat că Overholt, Yamate (citaţi de Pepys, 1969) prezentaseră statistici interesante; după aceştia, peste 40% din astmurile bronşice greu tratabile s-ar datora mecanismului „trigger" gastro-esofago-bronşic. Fine şi Abram (1971) atrag atenţia asupra unei alte posibilităţi de mecanism „trigger" şi anume: *astm bronşic prin corpi străini* în trahee şi bronşii. Este foarte greu de „diferenţiat" un astm prin inhalanţi obişnuiţi de unul prin corpi străini, chiar prin examen radiologic. Uneori, diagnosticul este îngreuiat şi de participarea unui mecanism imunoalergic adevărat, prin resorbţia locală de material alergenic din corpii străini organici.

Probleme delicate, de interpretare şi de terminologie, pune aşa-numitul „bronhospasm indus prin exerciţii". În raport de intensitatea efortului au fost incriminate ca avînd rol: scăderea rezistenţei la flux, hipoxia, hipocapnia, acidoza, scăderea bicarbonaţilor, eliberarea unor agenţi humorali prin exerciţii şi chiar un mecanism reflex „trigger". Deocamdată nu se poate trage nici o concluzie asupra rolului dominant al vreunuia din aceste mecanisme; se ştie numai că un mecanism imunoalergic, prin creşterea IgE, nu intervine (Fitch şi colab., 1972), dar tratamentul preventiv cu cromoglicat disodic poate fi eficace (Munro-Ford, 1971). Mecanismul imunoalergic poate explica cele mai multe cazuri de astm bronşic de tipul I şi III, dar numai în anumite momente, în altele putînd interveni şi alte mecanisme, inclusiv cel psihic.

Teoria imunoalergică (atopică sau nu) nu este suficientă pentru explicarea tuturor cazurilor de astm bronşic; de multă vreme a fost postulată teoria medierii reacţiei alergice prin sistemul nervos autonom. Ahlquist (1948) a formulat teoria receptorilor α şi β ai sistemului nervos autonom; Sutherlan şi Robinson (1966) au arătat că epinefrina acţionează prin enzima de membrană adenilciclaza, trecînd adeniltrifosfatul (ATP) în adenozintrifosfat (ciclic 3′, 5′AMP). Adenilciclaza pare a fi identică cu receptorul β. Széntivany (1968) a formulat teoria B-blocadei (parţială) în astmul bronşic, după care, în astmul bronşic ar fi vorba despre o succesivă hipersensibilitate a arborelui bronşic la alergeni, infecţii, pulberi specifice, fum etc.; în fond, s-a formulat teoria „mecanismului trigger" al bronşiei însăşi). Experienţele cu medicamente ca: practol (B_1 selectiv) sau propanolol (B_2) aduc unele argumente în sprijinul acestei ipoteze. Dar, tulburarea care face ţesutul bronşic incapabil la reglarea bronhospasmului este moştenită sau cîştigată ? Mecanismul „trigger" este el însuşi imunologic sau neimunologic ? Întrebări deocamdată fără răspuns. Este sigur doar că astmul de polen şi fungi are mecanism imun.

Scanned with OKEN Scanner

În plus, Reissman (1970) prezintă concluzii interesante asupra *astmului indus prin aerosoli adrenergici* (isoproterenol), plecînd de la observaţia că superdozarea poate fi asociată cu decesul astmaticului; autorul crede că dacă FEV_1 rămîne crescut cu 10% după 60′ de la administrarea aerosolilor, este semnul unei evoluţii favorabile.

2) RINITA ALERGICĂ

Rinitele alergice (*astmul de fîn, rinita periodică, rinita sezonieră, febră de fîn*) sînt îmbolnăviri, prin reacţii antigen — anticorp, în care organul de şoc este mucoasa pituitară. Etiologic se deosebesc următoarele tipuri: rinita periodică (polen şi fungi atmosferici), rinita aperiodică (praf de casă etc.) şi rinita vasomotorie, probabil nealergică.

Diagnosticul febrei de fîn este relativ uşor, în plin sezon polinic. Rinoreea paroxistă şi profuză, strănutul „în salve", lăcrimarea, pruritul nasului şi al pleoapelor, obstrucţia nazală (prin edem palid-albăstrui al mucoasei pituitare) sînt simptomele caracteristice. Testarea cutanată cu extracte polinice şi fungice, testarea oftalmică şi nazală confirmă cel mai adesea diagnosticul anamnestic; există însă subiecţi cu teste cutanate pozitive, fără semne de rinită periodică. Extractele de polen, pentru diagnostic şi tratament, sînt standardizate (tabelul nr. 24).

Tabelul nr. 24

Echivalenţe între diferitele extracte polinice

Unităţi polen Noon *	Unităţi N total	Unităţi N proteic (PNU)	Diluţie
2	0,000026	0,00001	1/500 000
20	0,00026	0,0005	1/50 000
100	0,0013	0,0001	1/10 000
1 000	0,013	0,005	1/1 000
10 000	0,13	0,05	1/100

* Unitatea Noon este cantitatea de alergen de polen uscat conţinut în a milionimea parte dintr-un gram de polen.

Pentru ţara noastră se descriu: febra de fîn de primăvară (martie — iunie), prin polen de arbori şi arbuşti (relativ rară), şi febra de fîn de vară (iunie — iulie — 15 august), prin polen de graminee, compozee (relativ frecventă); pentru S.U.A., Mexic, Canada se adaugă febra de fîn de vară tîrzie — toamnă (frecventă şi severă) prin polen de *Ambrosia*, iar pentru ţările din bazinul Mării Mediterane, febra de fîn de vară prin sensibilizare la polen de *Parietaria*. În timpul verii şi începutul toamnei se pot întîlni sensibilizări la fungi atmosferici: *Alternaria, Cladosporium, Stemphylium* etc.

Alergenul polen este tip de alergen „atopic"; Ishizaka a pus în evidenţă, în spălătura nazală, IgE în toate cazurile de astm polinic. Leonardy şi Peacock (1972) găsesc în serul bolnavilor de rinită periodică o medie de 600 ng/ml IgE, cu valori cuprinse între 50 şi 7 200 ng/ml; creşterea imunoglobulinei E este rapidă la începutul sezonului polinic, iar descreşterea este lentă, fără a se ajunge vreodată la normal.

Scanned with OKEN Scanner

Alergenul polen este tip de alergen atmosferic-regional; în aproape toate ţările lumii au fost alcătuite hărţi polinice şi fungice, utile pentru alegerea polenului de diagnostic şi mai ales pentru alegerea momentului de început al tratamentului hiposensibilizant presezonier, cu extract apos ori cu allpyral; de asemenea sînt utile pentru începerea tratamentului preventiv cu cromoglicat disodic local.

Rinita aperiodică (nesezonieră, perenă) are acelaşi organ de şoc, adică mucoasa pituitară; evoluţia este continuă. Alergenii mai frecvent incriminaţi sînt: praful de casă (dermatofagoizii), perii şi epidermele de animale, penele, alimentele (la copil în special) şi unele medicamente. Tratamentul hiposensibilizant specific, cvasicontinuu, este urmat de rezultate bune sau satisfăcătoare în mai puţine cazuri decît în rinita periodică (60% faţă de 85%); se administrează extracte apoase ori allpyral.

Diagnosticul diferenţial dintre cele 3 tipuri de rinită este în general uşor pentru un alergolog avizat (tabelul nr. 25).

Tabelul nr. 25

Diagnosticul diferenţial al rinitelor alergice

Simptom	Febră de fîn	Rinită aperiodică	Rinită vaso-motorie
Antecedente alergice	prezente	prezente	absente
Secreţie nazală	apoasă-profuză	apoasă-profuză	apoasă
Strănut	marcat	moderat	moderat
Simptome oculare	prezente	prezente	absente
Durata lor	săptămîni	ore sau zile (repetat)	ore sau zile (repetat)
Eozinofile în secreţia nazală	prezente	prezente	absente
Teste cutanate	pozitive (polen, fungi)	pozitive (praf casă etc.)	negative

De menţionat că, marea majoritate a autorilor consideră polipoza nazală ca o complicaţie a rinitei alergice, cu aceeaşi etiologie; tratamentul cel mai indicat este însă corticoterapia (ca şi rinitele alergice rebele la tratamentul obişnuit).

3) DERMATTA ATOPICĂ

Termenul de dermită atopică (neurodermite diseminate, prurigo Besnier) este utilizat pentru a desemna un sindrom cutanat, la care, după unii, etiologia alergică ar fi extrem de importantă sau chiar singura, iar după alţii ar exprima o instabilitate autonomă înnăscută a organelor şi ţesuturilor (inclusiv pielea) faţă de stimuli variaţi, care la normal sînt nevătămători. Din punct de vedere alergic, dermatita atopică nu este singurul sindrom la care se incriminează acest mecanism; dermatita de contact, urticaria şi edemul angioneurotic pot avea o etiologie alergică de 15—100% din cazuri.

Scanned with OKEN Scanner

Dermatita atopică este o „reacţie eczematoasă cronică" a pielii, ce apare uneori la subiecţi atopici şi se caracterizează prin modificări primare (tip spongioză şi vezicule) în cutis superior şi prurit intens. Organul de şoc pare a fi peretele vascular (permeabilitate crescută, edem, extravazare), spongioza şi veziculele apărînd secundar, pentru ca numai după aceea să apară: inflamaţia, hiperkeratoza, lichenificarea şi pigmentarea (Oriep, 1962). Pielea „atopică" anormală se observă mai întîi la copilul de 6 luni, pe suprafeţele convexe (gît, faţă, antebraţe), care devin roşii, crustoase şi extrem de pruriginoase; apoi, în ani, pielea se îngroaşă şi suferă diverse grade de pigmentare. În general, pe la 25 de ani, pruritul dispare şi gradat pielea îşi recapătă consistenţa normală; unii subiecţi vor suferi însă toată viaţa (chiar şi personalitatea devine tot atît de instabilă) de dermatită atopică, singură sau în alternanţă (ori concomitent) cu febra de fîn sau astmul bronşic.

Simptomul principal este pruritul, care ar putea fi explicat prin acţiunea unei proteinaze eliberată fie prin mecanism antigen — anticorp, fie prin factori mecanici termici. Au fost incriminate multe alergene etiologice, de la inhalanţi pînă la cei alimentari, de la cei prenatali pînă la cei postnatali; nimic nu ni se pare însă dovedit.

Dermatita atopică are însă cea mai constantă creştere de IgE, după Leonardy şi Peacock (1972) media fiind 2 600 ng/ml (între 90 şi 11 000); acesta ni se pare a fi cel mai important determinant şi tot el îndreptăţeşte încadrarea dermatitei atopice, cu astmul şi febra de fîn, în sindroamele atopice.

Uneori diagnosticul diferenţial dintre dermatita atopică, cea de contact şi cea seboreică poate fi dificil (tabelul nr. 26).

Tabelul nr. 26

Diagnosticul diferenţial al dermatitelor

Elemente de diagnostic	Dermatită atopică	Dermatită de contact	Dermatită seboreică
Localizare	suprafeţe flexoare (gît, cap, faţă)	suprafeţe expuse la alergen	nazolabial, axial
Morfologie	leziuni papuloveziculoase	leziuni eritemoveziculoase	eritem brun, grăsos
Vîrstă	obişnuit 1—3, 3—6 şi 12—18 ani	obişnuit 20—50 ani	de la 20 de ani
Tendinţă familială sau personală la alergoze	în 80% din cazuri	rareori	rareori
Răspuns la terapie	în timp, bun	bun, la întreruperea contactului	bun
Eozinofilie	prezentă	absentă	absentă
Răspuns imediat plus cutanat	deseori	nu	nu
Răspuns tardiv („patch-test")	nu	deseori	nu

Răspunsul terapeutic în dermatita atopică este bun, dar numai în timp lung. Hidroxizina, antihistaminicele bine alese, corticosteroizii topici şi psihoterapia copilului şi a părinţilor sînt deseori utile.

4) SINDROAME ALERGICE INDUSE

Diferenţierea prea rigidă între sindroamele „atopice" şi cele induse nu pare utilă. Acesta este cazul, în primul rînd, al alergiei medicamentoase, care ar trebui să fie tip de sindrom alergic indus; dar în unele cazuri de „alergoze" prin penicilină, observaţia nu pare a se confirma. Sînt de discutat sindromul de „tip şoc anafilactic" şi cel de „tip boala serului". În cazul alergozelor obişnuite, subiecţii vin în contact natural cu alergenii, sindromul clinic apărînd numai la persoanele alergice; în cazul alergozelor medicamentoase, subiecţii vin în contact neobişnuit cu medicamentele-alergeni. Medicamentul este aproape întotdeauna o haptenă şi devine alergen numai prin interacţiunea cu proteinele serice. Diagnosticul se bazează deseori pe observaţie clinică atentă, testarea cutanată obişnuită dînd rezultate pozitive numai în 30—40% din cazuri.

Reacţiile alergice medicamentoase se adresează unuia sau altuia dintre organe, mai frecvent fiind vorba însă de piele, mucoase, bronhii sau sînge. Ele pot fi de tip imediat (boala serului, şocul anafilactic), de tip tardiv (dermatite de contact, reacţii fixe, reacţii „id") sau greu de încadrat (periarterita nodoasă, lupusul eritematos diseminat, reacţiile febrile, vasculite alergice etc.).

Lista medicamentelor care produc reacţii alergice este foarte mare şi în continuă creştere, odată cu apariţia de noi medicamente. Aspirina, sulfonamidele, barbituricele, insulina, tranchilizantele, extractul de ficat etc. pot fi cauza urticariei acute sau cronice; uneori, sindromul este reprodus, la reluarea medicamentului, după o pauză de minimum 5 zile. Sulfonamidele, tiouracilul, acidul paraaminosalicilic, arsenicalele, streptomicina, barbituricele, anestezicele locale, antihistaminicele de sinteză (ca unguente), topicele etc. pot fi cauza dermatitei medicamentoase ori a celei de contact; perioada de incubaţie este de 7—10 zile, iar „patch-testul" este obişnuit pozitiv. Sulfonamidele, streptomicina, barbituricele, anticonvulsivantele, acidul paraaminosalicilic etc. se pot însoţi de „rash" maculo-papulos (dermatită medicamentoasă), ori de stare febrilă, care pune deseori probleme dificile de deontologie medicală. Amidopirina, tiouracilul, barbituricele, sulfonamidele, sedormidul, medicamentele cu aur etc. se pot asocia cu leucopenie (pînă la agranulocitoză), anemie sau purpură trombocitopenică. Clorpromazina, sulfonamidele au fost incriminate în etiologia „hepatitei alergice", a eritemului nodos, iar iodul, bromul şi barbituricele în etiologia erupţiilor acneiforme, în sindromul Döhring-Brocq şi sindromul Loeffler.

Reacţii alergice după administrare de penicilină. Penicilina din cauza accidentelor alergice mortale a fost cel mai bine studiată (tabelul nr. 27).

Primele 4 tipuri (inclusiv II A şi II B) se încadrează în hipersensibilitatea de tip imediat (cu unele rezerve); tipul V este tardiv. În 1960 se testa cutanat aproape numai cu penicilina ca atare şi rezultatele erau

Tabelul nr. 27

Tipuri de reacţii alergice la penicilină (după Siegal, 1960)

Tip	Incidenţă	Perioadă de incubaţie	Manifestări majore	Teste cutanate
I. Întîrziat	frecvent	5—21 zile	urticarie, febră, artralgii, sindrom tip „boala serului"	obişnuit negative
IIA. Accelerat	rar	2—48 ore	reacţii mai intense ca la I; dau angionemolii	t.c. pozitive tardiv
IIB. Imediat	rar	30 min-2 h	şoc anafilactic; angioedem; astm bronhic, urticarie	t.c. pozitive (seratch)
III. Hiperergic	neobişnuit	ca la I sau II A	purpură; dermatită exfoliativă; sindrom Loeffler, angeită; fenomen Arthus local	t.c. negative
IV. Eritemato-vezicular („id-like")	frecvent	1—3 rar 6 zile	Eritem; prurit intens	t.c. pozitive tip eczematos
V. Dermatita de contact	frecvent	5—21 zile	dermatita venenata	„patch-test" pozitiv

nesatisfăcătoare. În 1969, Levine şi Zolov (1969) au pus la punct testarea cutanată complexă cu:

1) benzil-peniciloil-polilizină (B. PL. sau P. PL), în concentraţie 1×10^{-6} M sau 1×10^{-5} M.

2) M.D.M. (mixtura determinantului minor compusă din: benzilpenicilină cristalină 2×10^{-3} M, sodium benzilpeniciloat 1×10^{-2} M, benzil peniciloat 1×10^{-2} şi sodium-benzil peniciloilamină 1×10^{-2} M),

3) M.D.M. din penicilinele semisintetice.

Autorii au plecat de la constatarea că acidul benzilpeniciloic (zisă peniciloilare) şi acidul benzilpenicilenic sînt de fapt alergene (cap. 18). Utilizînd întreaga baterie de teste cutanate s-a constatat că tipurile II A şi II B constituie 13—15% din totalul anamnezelor de alergie la penicilină; amestecul determinanţilor minori (M.D.M.) dă reacţia pozitivă în tipul imediat şi B.PL. dă reacţii pozitive în tipul accelerat. Tipul IV, frecvent întîlnit, pare a nu fi produs printr-o veritabilă reacţie imună, deşi un „produs cu moleculă foarte mare", o „impuritate", care include însuşi acidul 6-aminopenicilanic (6—A.P.A.) şi care este rezultat din impurităţi provenite din *Escherichia coli*, ar fi agentul toxic-alergic al acestui tip. Tipul I, II A şi II B, la care se întîlnesc teste cutanate pozitive prezintă şi o creştere a IgE, făcîndu-se prin aceasta trecerea între alergia atopică şi cea indusă; tipurile III, IV şi mai ales V nu evoluează cu modificări ale IgE.

Tratamentul alergiei la penicilină este preventiv (a nu se abuza de medicament, se vor administra numai la indicaţie) şi curativ simptomatic; hiposensibilizarea nu este ridicată (dealtfel ca în orice alergie medicamentoasă) decît în cazuri de infecţie cu streptococ, sensibil numai la penicilină.

Scanned with OKEN Scanner

5) URTICARIA ŞI EDEMUL ANGIONEUROTIC

Aceste sindroame comune pun frecvent probleme de diagnostic etiologic şi de tratament. După cele mai multe statistici, aproximativ 12—15% din bolnavii neatopici, care se adresează consultaţiilor de boli de piele, au o anamneză de urticarie. Primul diagnostic diferenţial ce se impune este cel între urticarie şi dermografism; urticaria se manifestă clinic prin leziuni edematoase şi eritematoase, pruriginoase şi tranzitorii, localizate sau generalizate, iar dermografismul este răspunsul prin „papulă" edematoasă la presiunea pielii. Practic, dermografismul se recunoaşte prin apariţia unei papule de peste 3 mm, la o presiune exercitată de o greutate de circa 200 g; la 1,5% din totalul populaţiei apare dermografism. Probleme de imunoalergie pune deci numai urticaria şi numai într-un procent de maximum 15—20% din totalitatea cazurilor. Baughman şi Sillon (1969) au evidenţiat 7 tipuri de urticarie; le vom prezenta, plecînd de la cele nealergice spre cele alergice:

Tipul 1. *Urticaria colinergică.* Leziuni urticariene mici (1—2 mm), foarte pruriginoase, cu reflex de axon în jur, cu apariţie pe palme după exerciţiu, căldură sau emoţie; se adaugă, în 1/2 din cazuri, crampe abdominale, diaree, salivaţie şi cefalee.Pare a fi vorba despre un deficit de colinesterază. Testul de diagnostic se face cu mecholyl 1/5 000, care reproduce leziunea.

Tipul 2. *Urticaria factitia* apare la bolnavi cu dermografism pozitiv, după frecare sau scărpinare şi se manifestă printr-o umflătură liniară, mărginită de o zonă eritematoasă. Un tip special este urticaria dermografică tardivă (tip 4), unde papula apare la 2—8 ore (şi durează 24—48 de ore) de la frecare şi unde poate fi incriminat un mecanism alergic fungic.

Tipul 4. *Urticaria fizică* „la rece sau la cald" (vezi alergia fizică).

Tipul 5. *Urticaria prin alergeni inhalanţi*, în polinoze, uneori în alergia de praf de casă, prin inhalare de acroleină (fum de ţigară) etc. Apare la subiecţi atopici.

Tipul 6. *Urticaria peptonică* se manifestă prin papule gigante, la gurmanzi, unii alcoolici (alcoolul este un agent eliberator de histamină) şi la indivizii excitaţi; acest tip este numai pe jumătate alergic, adică numai la subiecţii la care s-au pus în evidenţă peptonele care au trecut în circulaţie din tractul intestinal.

Tipul 7. *Urticaria tip „boala serului"* care apare după administrare de seruri străine terapeutice şi medicamente (penicilină, streptomicină, aspirină, sulfamide, tiouracil etc.) Acest tip are aproape totdeauna o etiologie imunoalergică şi ţine de eliberarea masivă de substanţe farmacologic active (inclusiv histamină), după administrare de antigeni inhalanţi sau alimentari. Antigenii obişnuit incriminaţi sînt: cosmetice, peri şi epiderme, pene, alergeni industriali (săruri complexe de platină, poliamine alifatice, sulfurdioxid etc.) şi antigeni alimentari (lapte, albuş de ou, ciocolată, cartofi, carne, peşte, zmeură, fragi, căpşuni, raci etc.). După ingerarea ultimilor 4 alergeni, urticaria îmbracă un aspect „anafilactoid".

Este descrisă o urticarie prin inhalarea (sau ingestarea odată cu alimentele) a fungilor atmosferici sau prin infestare cu *Candida albicans*.

Scanned with OKEN Scanner

Se admite că urticaria alergică reprezintă o hipersensibilizare de tip imediat şi că ar fi mediată prin reagine, dar nici Juhlin (1969), nici Leonardy şi Peacock (1972) nu găsesc modificări ale IgE. Din acest punct de vedere, o menţiune specială trebuie făcută pentru urticaria din cursul parazitozelor, pentru care nu este clar dacă creşterea (destul de însemnată) a IgE se datoreşte parazitului sau urticariei propriu-zise.

Urticaria din bolile sistemice şi urticaria pigmentoasă nu recunosc un mecanism imunalergic.

Urticariile nealergice au indicaţie pentru tratament cu antihistaminice de sinteză, hidroxizină şi, numai în "cazuri rezistente", corticoterapia; în urticaria alergică se poate încerca hiposensibilizarea (lapte de vacă, propeptone) sau, mai bine, eliminarea alergenului.

Edemul angioneurotic este o variantă a urticariei, la care exsudarea se face în ţesutul subcutanat; poate apărea singur (10 — 15% din cazuri) sau asociat cu urticarie. Localizările obişnuite sînt: pleoape, buze (peste 65% din cazuri), limbă, genital, laringe. Debutul este brusc; pruritul redus ori absent. Etiologia alergică este aceeaşi cu a urticariei.

Menţiune specială merită edemul angioneurotic familial, descris de Osler în 1888 (în 5 generaţii ale unei familii) şi care are mortalitate de maximum 35% din cazuri prin edem laringian. Debutul se face în copilărie sau la adultul tînăr. Astăzi este stabilit că este vorba despre o tulburare enzimatică (nu imunoalergică) şi anume de reducerea cantitativă a inhibitorului ce activează prima componentă a acestuia; inhibitorul natural al C′-esterazei este deficitar în edemul angioneurotic familial.

Tratamentul constă în administrare de plasmă proaspătă îngheţată sau acid epsilon aminocaproic.

6) ALERGIA FIZICĂ

În 1925, Duke a introdus termenul de alergie fizică, care include, astăzi, sensibilizarea la rece, căldură, efort şi raze solare. Duke socotea că este vorba despre o reactivitate alterată (şi acesta este adevărul pentru multe cazuri), fără implicaţia unui mecanism Atg-Atc. Natura Atg este necunoscută. Unii cred că este vorba despre Atc faţă de un autoantigen (un constituent normal al celulei alterat pe cale chimică, fizică etc.), iar alţii consideră ca mecanism eliberarea de acetilcolină ori histamină, printr-o cauză încă neclarificată.

Manifestările clinice ale alergiei fizice pot fi încadrate în două tipuri: unul de contact, limitat la suprafaţa unde s-a produs direct contactul cu alergenul fizic, şi altul reflex, reacţia apărînd şi la distanţă; primul tip este comparabil cu unele manifestări din alergia medicamentoasă (Urbach).

Alergia fizică primară (lumină, cald, rece, presiune) este aproape sigur o manifestare clinică prin mecanism Atg-Atc; în literatura medicală pînă în anul 1949, Rajka a găsit citate 36 de cazuri cu transfer pasiv pozitiv.

Este interesantă experienţa lui Karad chiar dacă n-a fost total confirmată. Autorul a injectat ser de cobai, expus la rece (—5°) sau la cald (+56°C) timp de 90 s. După 3 săptămîni a reinjectat animalelor alergen

preparat în acelaşi fel şi a produs şoc anafilactic. Un sindrom de tip exantem urticarian hemoragic a putut fi reprodus prin injectare de proteoză urinară, după exerciţii fizice. Manifestările alergice (sau „patergice" după Urbach) pot apărea, de exemplu, numai cînd bolnavul respiră aer rece, numai la modificări bruşte de temperatură.

Sindroamele clinice mai importante sînt urticaria (localizată sau generalizată), edemul angioneurotic, purpura sau fenomenele tip Reynaud, dermatita, hemoglobinuria paroxistică etc.

Alergia fizică la rece. La subiecţii sensibilizaţi, expunerea la rece poate produce : urticarie, edem angioneurotic şi, uneori, asociere de purpură sau fenomen Reynaud. Este interesant cazul clinic prezentat de Duke : bolnavul respectiv sparge gheaţă pentru masă ; după cîteva minute prezintă durere în gură, esofag şi stomac, lăcrimare, tuse şi sindrom de tip şoc anafilactic. Sînt raportate alte cazuri ca : diaree, sindrom tip şoc anafilactic, edem glotic şi urticarie de tip tardiv sau cu purpură. Au fost descrise cazuri de alergizare familială. Diagnosticul se face prin test de provocare : aplicarea unui tub cu gheaţă pe braţ, timp de 10 minute, sau a unui cub de gheaţă face să apară imediat reacţia ; există însă şi reacţii ce apar după 6 — 24 de ore.

Tipul cel mai puţin obişnuit se asociază cu crioglobuline. În urticaria la rece dobîndită (neidiopatică, necongenitală) transferul pasiv este posibil (cu 0,1 ml ser de bolnav, injectat s. c. în antebraţ şi expunerea locului respectiv la un cub cu gheaţă, după 6 ore). În aceste cazuri este nevoie de o supraveghere prelungită, fiindcă s-au descris cazuri fatale (Criep).

Tratamentul se face prin hiposensibilizare progresivă, histamină efedrină, clorochin etc.

Alergia fizică la căldură se manifestă prin urticarie localizată sau generalizată, senzaţie de arsură sau eritem, tahicardie, astm bronşic şi migrenă. Transferul pasiv este foarte rar pozitiv. Ingesta de mîncare caldă sau expunerea la căldură pot creşte temperatura corpului (prin stimularea „centrului căldurii") cu 0,2 — 1°F ; cel mai frecvent este vorba despre urticarie de tip colinergic.

Tratamentul se face prin diatermie (gradat) sau autosensibilizare, timp de 4 — 6 săptămîni.

Alergia fizică la presiune se manifestă tot prin urticarie şi uneori prin astm ; deseori se asociază şi factori alimentari. Diagnosticul se face prin testul de presiune : aplicarea unei greutăţi (cu susţinător) de 10 kg pe umăr duce la o reacţie imediată sau tardivă (24 — 28 de ore), ceea ce îl deosebeşte de „urticaria factitia", care apare numai la o foarte uşoară presiune.

Alergia fizică la raze de soare este, probabil, cea mai interesantă formă de alergie fizică. De la început este nevoie să se facă deosebirea între reacţii fotoalergice şi fototoxice. Reacţiile fotoalergice apar numai după o perioadă de incubaţie (10 zile de la o expunere anterioară), iar leziunile sînt de tip urticarian, eritematos ori eczematos (durează 10 — 14 zile). Manifestarea clinică este circumscrisă la suprafeţele expuse, după un timp foarte scurt (secunde sau minute) şi la o lungime de undă de 2 750 — 5 200 Å, chiar prin fereastra deschisă. Tipul de reacţie este tardiv ; transferul pasiv a fost descris numai la lungimea de undă de 2 900 — 3 000 Å.

Scanned with OKEN Scanner

Epstein a atras atenţia asupra faptului că injectarea de sulfanilamidă i.d., urmată de iradiere cu u.v., duce la apariţia de urticarie după 10 zile la aproape toţi subiecţii; există deci fotoalergie în asociaţie cu administrarea de medicamente: sulfamide, barbiturice, insecticide, ulei de bergamote etc., şi reacţiile fototoxice se pot asocia cu administrarea de medicamente: sulfamide, clorpromazină, antidiabetice, diamon, parfumuri, chinină; timpul de incubaţie lipseşte însă.

Tratamentul este nesatisfăcător; excluderea alergenului sau a toxicului nu este totdeauna posibilă. Se încearcă niacinamidă 100 mg de 3 ori pe zi, histamină etc. Mai utile par a fi însă măsurile terapeutice privind bolile asociate (dealtfel importante pentru alergia fizică în general), colecistectomie (Urbach) (colecist calculos), diaree cu entamoeba, corectare hormonală (testosteron, estrogeni), tratamentul limfogranulomatozei lingvinale (Urbach), extirparea focarelor de infecţie. Sînt utile măsurile profilactice privind administrarea medicamentelor, care pot duce la fotosensibilizare.

La sfîrşitul capitolului de alergie fizică socotim util a prezenta, după Derbes şi Coleman (1972), date asupra *urticariei la rece, familială* descrisă încă din 1663; pînă astăzi au fost raportate multe cazuri. Sindromul are următoarele caracteristici: este familial, autosomal, dominant (de la tată), debutînd chiar în primele săptămîni de viaţă, prin expunere la aer rece sau la atingerea gheţii; în afară de urticarie se pot adăuga: dureri articulare, febră, cefalee, leucocitoză cu neutrofilie. Simptomele durează 48 de ore; transferul pasiv este negativ.

Leziunea este caracterizată prin inflamaţie acută marcată cu edem, infiltrat moderat cu limfocite şi neutrofilie cu leucocitoză. Histamina nu pare a avea o relaţie directă cu leziunea.

Diagnosticul diferenţial (uneori dificil) se face cu:

a) Urticaria ereditară, nemediată prin rece; 8 bolnavi din 17 membri ai familiei (prezentaţi la Torok), prezentau acest sindrom, la unii fiind asociat cu: astm, eczemă, febră de fîn;

b) Edemul angioneurotic familial, tulburare enzimatică; nu apare la rece, doar la traume;

c) Protoporfiria eritropoetică, asociată cu urticarie; predomină la bărbaţi (familial) şi apare după expunere la soare.

d) Crioglobulinemia simptomatică din: mielom multiplu, leucemie limfatică, kala azar etc. se poate manifesta cu urticarie;

e) Urticaria la rece cîştigată; leziunile apar la extremităţile expuse, imediat; se pot asocia simptome bronhospastice, hipotensiune (şi sincopă), hiperaciditate. Crioglobulinele absente. Diagnosticul cel mai dificil, trebuie făcut cu urticarie la rece familială, cu anticorpi cutansensibilizanţi.

Se încearcă tratamentul preventiv al urticariei la rece familială prin injectare de polizaharid de *Pseudomonas*.

BIBLIOGRAFIE

ADISESHAN I., SIMSON BR., GANDERIA I., Aust. N. Z. J. Med., 1971, *4*, 385.
AHLQUIST R. D., Amer. J. Physiol., 1948, *153*, 586.
ALTOUNYAN R. E. C., HOWELL J. B. L., Proc. 2nd Internat. Symp. Tuberc. Climate, Asthma Bronchites, 1969, suppl., 131 — 140.

AUSTEN FR., BECKER L. E. (sub. red.), *Biochemistry of the acute allergic reactions*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, Edinburgh, 1968.
BANASZAK E. F., THIEDE W. H., FINK S. N., New Engl. J. Med., 1970, *283*, 271.
BASTEN A., BOYER M. H., BEESON P. B. J., J. Exp. Med., 1970, *131*, 1 271.
BAUGHAM D. R., SILLON T. D., Ann. Allergy, 1969, **21**, *5*, 248.
BONO I., LEVITT P., Ann. Allergy, 1964, **66**, *2*, 72.
BURDON K. L., Allergy, 1967, **25**, *9*, 483.
CAPETTI ELENA POPESCU I. GR., GHEORGHIU T., DOBRE I., TĂNASE C., Acta Allergol. 1969, 39—48.
COOMBS R. R. A., GELL P.G.H., *Clinical aspects of immunology*, Blackwell, Oxford, 1963.
COCA A. F., WALZER M., THOMMEN A. A., *Asthma and hay fever*, Ch. C. Thomas, Springfield, Illinois, S.U.A., 1931.
COHEN S., WARD P. A.J., J. Exp. Med., 1971, *133*, 133.
COLLDAHL H., Acta Allerg., 1967, suppl. 8, 22.
COLLERANE K. L., CINDERAI S. S., BOHROD M. G., WAUGHAN J. H., N. Engl. J. Med., 1971, *284*, 459.
COLLINS C. WILLIAMS, KUKUBU H. L., LAMENZA C., NIZAMI R., CHIN A. W. și colab., Ann. Allerg., 1972, *36*, 11.
CONNELL I. T., J.A.M.A., 1971, *215*, 769.
COOKE R. A., *Allergy in theory and practice*, sub red. SAUNDERS W. B., Philadelphia, 1947.
CRIEP L. H., *Clinical immunology an allergy*, Grune a Stratton, New York, 1962.
DERBES V. I., COLEMAN W. P., Ann. Allergy, 1972, *30*, 335.
ENGSTROM I., OBERGER E., BLYCKERT A., KRAEPELINE S., Ann. Allergy, 1971, **29**, *10*, 505.
FINE A. J., ABRAM L. E., Ann. Allergy, 1971, *79*, 217.
FISHMAN L. S., HEWITT N. L., Med. Clin. N. Amer., 1970, **54**, *5*, 1 081.
FITCH K. D., TUMER J. J., MORTON A. R., Ann. Allergy, 1972, **30**, *9*, 497.
FRICK O. L., Ann. Allergy, 1966, **24**, *3*, 95.
GATTI T. A., GOOD R. A., Med. Clin. M. Amer., 1970, **54**, *2*, 281.
GORDON V. H., KELSY I., CAPLINGER S. H., THOMSON T., Ann. Allergy, 1972, 30, *9*, 507.
GRAY F. D., *Immunology*, Arnold Publishers Ltd., Londra, 1964.
HARKAVY J., *Vascular Allergy and its systemic manifestations*, Butterworths, Washington, 1963.
HEINER D. C. ROSE BR., J. Allergy, 1970, *45*, 30.
HOLMAN S. G., MOLK L., MICKLICH D., Ann. Allergy, 1972, **32**, *5*, 250.
IMMAN W. H., ADELSTEIN A. M., Lancet, 1969, *2*, 279.
JIMENEZ DIAZ C., All. u. Asthma, 1968, *4*, *3*, 1 973.
JOHANSSON S. G. P., Lancet, 1967, *2*, 951.
JOHANSSON S. G. P., BENNICH H., Ann. Allergy, 1970, *28*, 361.
JUHLIN L., JOHANSSON S. G. P., BENNICH H., HOGMAN C., THYRESON N., Arch. Derm., 1969, *100*, 12.
KING T. P., NORMAN P. S., LICHTENSTEIN L. M., Ann. Allergy, 1967, *25*, 541.
KLOTZ S. D., MOELLER R. K., Ann. Allergy, 1971, *79*, 325.
KOHLER P. F., FARR R. S., J. Allergy, 1967, *30*, 311.
LEEUWEN W. VAN, *Storn Ecnige of markingen over de behandeling van asthma bronchiale*, Ned. T. V. geneesh., 1921.
LEONARDY J. G., PEACOCK L. B., Ann. Allergy, 1972, **32**. *7*, 738.
LEVINE B. B., ZOLOV D. M., J Allergy, 1969, *48*, 231.
LICHTENSTEIN L. M., ADKINSON N. F., J. Immunol., 1969, *105*, 866.
MAEDA K., Jap. J. Allerg., 1971, *20*, 244.
MAUNSELL K. U., WRAIGHT A. G., CUNNIGTON A. M., Lancet, 1968, *1*, 1 267.
MOLINA CL., BRUN J., FAVIER M., Med. et Hyg., 1971, *946*, 45.
MOTA I., în *Biochemistry of the acute allergic reactions*, sub red. AUSTEN EL., BECKER L., Blackwell Scientific Publications, Oxford, Edinburgh, 1968.
MUNRO-FORD R., Ann. Alllergy, 1971, *29*, 8.
NELL A. P., AMMAN J. A., HONG R., STICHM R. E., Pediat., 1972, *48*, 71.
ORR T. S. C., COOK J. S. C., Nature, 1969, *223*, 197.
PAUN R., POPESCU I. GR., Med. Int., 1972, *10*, 1 225.
PEPYS J., Med. et Hyg., 1969, *887*, 1 138.
PEPYS J., HARGREAVE F. E., CHAN M., MC CARTHY D. S., Lancet, 1968, *2*, 134.
POPESCU I. GR., CAPETTI E., OLARU C., DOBRE J., NĂSTASE C., Acta Allergol., 1969, 32 — 38.
PRINCE H. E., MORROW M. B., Ann. Allergy, 1963, *21*, 471.
REISSMAN R. E., J. Allergy, 1970, *46*, 162.

Scanned with OKEN Scanner

RINKEL H. S., RANDOLPH T. A. C., ZELLER M., *Food Allergy*, Ch. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
SAMTER M., DURHAM D. C., *Regional allergy of the U.S., Canada and Mexico*, Ch. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1956.
SAMTER M., ALEXANDER H. (sub red.), *Immunological diseases*, Little Brown and Company, Boston, 1965.
SANERKIN N. CH., *Terminology and classification of „bronchial asthma" and „chronic bronchitis", a reapprisal and redefinition*,
SCHWARTZ M., *Heredity in bronchial asthma*, Munksgaard, Copenhaga.
SHEFFER A. L., AUSTEN K. F., *Sixth Intrenational Congress of Allergy*, Montreal, Canada, 1969, Abstracts Exp. Medic. Foundation.
SHELDON S. M., LOWELL R. C., MATHEWS P., *A manual of clinical allergy*, W. B. Saunders, Philadelphia, 1953.
SHERMAN W. B. S., în *Fundamentals of modern allergy*, sub red. PRIGAL S. I., Mc. Graw-Hill Book Comp. Inc., New York, Londra, Toronto, 1960.
SIEGAL SH., în *Fundamentals of modern allergy*, sub red. PRIGAL S. I., Mc. Graw-Hill Book Comp. Inc., New York, Londra, Toronto, 1960.
SLAVIN R. G., MILION L., CHERRY J., J. Allergy, 1970, **46**, *3*, 150.
SLY M. R., HEIMLICH M. E., Ann. Allergy, 1967, **25**, *10*, 578.
STANWORTH DR., HUMPHREY J. H., BENNICH H., JOHANSSON S. G. O., Lancet, 1964, *111*, 330.
SPIED R. J., BARRONK J., Ann. Allergy, 1966, **24**, *9*, 499.
SPIEKSMA F. TH. M., *The house dust white dermatophagoides pteronyssimus producer of the house dust allergen*, Thèse, Leiden.
STEVENSON D. D., OREEL H. A., HUMBURGER R. N., REID R. T., J. All. Clin. Immunol., 1971.
SUTHERLAND E. W., ROBINSON G. A., Pharmacol. Rev., 1966, *18*, 145.
SZENTIVANYI A., J. Allerg., 1968, *42*, 208.
SWINEFORD O. JR., Ann. Allergy, 1972, **30**, *8*, 464.
TOMASEFSKY J. F., PRATT PH. C., Med. Clin. North. Amer., 1967, **51**, *2*, 269.
TUFT L., MUELLER L. A., în *Allergy in children*, W. B. Saunders Comp., Philadelphia Londra, Toronto, 1970.
UNTRACHT G., în *Fundamentals of modern allergy*, sub red. PRIGAL S. I., The Blakiston Division, Mc. Graw-Hill Book. Comp. Inc., New York, Londra, Toronto, 1960.
VALLERY-RADOT PASTEUR, FOLFROMM R., CHARPIN J., HALPERN B. N., *Maladies allergiques*, Edit. Medicales, Flammarion, Paris, 1963.
VAN DER WERF Z. S., *Mould fungi and bronchial asthma*, C. Ch. Thomas, Springfield, Illinois, 1958.
WECK A. L. DE, EISEN H. N., J. Exp. Med., 1960, *112*, 1 277.
WINKENWERDER L. WALTER, *Buletinul Interastma, IV*.
WHITCOMB N., Ann. Allergy, 1971, *29*, 67.
VOORHORST R., Acta Allerg. (Kbh.), 1970, *25*, 237.
YOUNG R. C., BENNETH J. E., VOGEL C. L., CARBONE P. P., DEBITA V. T., Medicine, 1970, *49*, 147.
ZWEIMAN B., SCHOENWETTER W. F., HILDRETH E. A., J. Allergy, 1968, *29*, 304.
* * * *Congresso international de allergologia*, Madrid, 1964, Edit. Paz Montalvo, 1964.
* * * VII. *International Congress of Allergology*, Folia Allergologica. 1970.

Scanned with OKEN Scanner

12. BOLI PRIN COMPLEXE IMUNE

ŞT. BERCEANU

A. BOALA SERULUI

Începînd cu Von Pirquet în 1911, boala serului a fost considerată boală imunologică, prin reacţie Ag—Ac ţinînd seamă de condiţiile în care a fost remarcată şi de manifestările clinice la om şi la animal. Mai tîrziu, Klinge şi apoi Rich (1947) au precizat caracterele leziunilor sistemice sau localizate, descriind degenerescenţa şi necroza fibrinoidă, şi au făcut legătura patogenică cu grupul mare de boli care mai tîrziu au fost interpretate ca boli de colagen. Deşi produse în alte condiţii, acestea au leziuni histopatologice asemănătoare şi determinate de acelaşi mecanism ca boala serului. Cercetările făcute după 1955 (Germuth, Dixon, Cochrane) au precizat că boala serului, ca şi întregul grup de boli cu leziuni conjunctivo-vasculare sînt produse prin complexe imune precipitate în circulaţie şi depuse în interstiţii şi mai ales în pereţii vaselor arteriale, capilare, glomeruli renali. Boala experimentală cu unele diferenţe de specie, după animalul tratat şi după serul folosit ca Ag, se aseamănă întrutotul cu boala serului la om.

Manifestările clinice în funcţie de starea imună a individului, de intensitatea şi timpul de apariţie, de durata lor, se pot grupa în fenomene clinice anafilactice acute trecătoare şi în fenomene clinice determinate de evoluţia sistemică sau locală a leziunilor vasculare prin complexe imune.

Fenomenele anafilactice apar brutal, cu stare de şoc, frison şi febră, curbatură, dispnee, hipotensiune şi alte manifestări variate, ca edem de glotă, urticarie, eriteme maculo-papulare, crampe intestinale. Ele durează, în general, o perioadă scurtă şi constituie modul de debut al bolii serului putîndu-se repeta atîta timp cît persistă încă Ag.

Fenomenele alergice determinate de leziunile prin complexe imune pot să apară odată cu cele anafilactice, însă sînt în general mascate de acestea şi se instalează în continuarea lor: febră, dureri articulare, dureri lombare, reacţii exsudative în seroase, modificări cardiace ca în puseul de reumatism acut; de asemenea unele manifestări renale, trecătoare sau persistente, cu oligurie, hematurie, proteinurie. Pot să apară în plus tulburări intestinale, cu colici, diaree şi chiar hemoragii digestive.

Durata clinică a bolii serului poate să fie scurtă, de 2 — 3 zile, dar poate ajunge la săptămîni sau chiar luni. Se termină cu o stare de epuizare generală, cu descuamări cutanate, adesea ca după scarlatină. Pot să persiste unele leziuni renale sau cardiace. În forma sa prelungită evoluează în cicluri de 5 — 6 zile, cu perioade de remisiune şi de recădere.

Cele două tipuri de simptome se intrică cu intensitate variată, determinînd 3 forme:

Scanned with OKEN Scanner

1) Boala serului primitivă apare la indivizi care nu au primit anterior în trecutul lor nici o injecţie de ser eterolog. Debutează la 7 — 14 zile de la administrarea serului terapeutic şi este dominată de manifestările prin complexe imune, putînd fi uşoară, moderată sau gravă şi prelungită.

2) Boala serului accelerată, secundară, apare rapid în general cu manifestări anafilactice imediate la cîteva minute după injecţie şi cu instalarea celorlalte simptome după 1 — 3 zile. Poate fi gravă, chiar mortală de la început, prin manifestările anafilactice.

3) Boala serului la indivizi cu sensibilizare atopică se manifestă ca şi cea secundară, cu fenomene anafilactice acute deşi nu există antecedente de seroterapie. Se admite că aceşti invizi au o constituţie atopică cu defect de inhibitor al C′ şi care în plus s-au sensibilizat lent la Ag care au produs Ac reaginici.

Aceştia pot să dea reacţii imune încrucişate de tip anafilactic la administrarea serului terapeutic.

Substratul imunobiologic. Cercetările la animal făcute de Germuth şi reluate recent prin Ag marcate cu I^{131} au arătat că boala se produce atunci cînd s-a ajuns la o anumită concentraţie de Ac. În perioada de debut există un exces de Ag în zilele a 7-a şi a 8-a, cînd apar primele simptome în boala serului primară; după 2 — 3 zile, Ag scad pînă la dispariţie şi în complexele imune şi în sînge predomină Ac care fixează acum şi C′. În prima perioadă, cu predominanţă de Ag, complexele apar ca agregate încă intermediare ca dimensiuni, migrînd la ultracentrifugă între 9 şi 17 S. Acestea dau fenomene clinice moderate. În perioada următoare, prin fixare de C′ agregatele sînt foarte mari, în jur de 22 S şi apar leziuni importante degenerative şi inflamatorii, în general la 10 — 13 zile de la inoculare. În ziua a 8-a, Ag marcate scad sub 10% din cantitatea injectată. Concomitent, creşterea Ac cu titru hemaglutinant peste 60 000 formează complexe cu scădere de C′ seric sub 50%.

Obişnuit, boala serului durează atîta timp cît persistă în sînge şi în ţesuturi complexele imune. Dacă sistemul reticuloendotelial funcţionează bine complexele dispar după 3 — 7 zile de la apariţia anticorpilor şi boala se vindecă. Dacă seroterapia se repetă, după o nouă cantitate de Ag în circulaţie apar noi pusee acute şi durata bolii se prelungeşte.

Cercetarea sistematică a Ac a urmărit să determine natura lor ca Ig, ca funcţie biologică, după metoda de testare şi relaţia lor calitativă şi cantitativă cu manifestările bolii. Ac hemaglutinanţi sînt constant prezenţi şi este posibilă urmărirea evoluţiei simptomelor după titrul lor. Acestea apar la titru de peste 1/10 000 şi sînt variabili după afinitatea de agregare a lor cu Ag. Boala apare după administrarea nouă de ser la un individ la care se găseşte un titru natural de peste 1/200, altfel fiind foarte rară. După Arbesman şi Reisman (1971), indivizii cu titruri mici de Ac hemaglutinanţi, înainte de tratament, nu fac boala serului întrucît Ac depăşesc rar titrul de 1/10 000 prin tratament. Cei cu titru iniţial de peste 1/200 ajung postterapeutic la titruri foarte mari şi fac boala serului cu frecvenţă de peste 90%, după intensitatea creşterii lor. Ca structură, Ac hemaglutinanţi sînt IgG punîndu-se în evidenţă liberi, în complexe şi în organe.

Creşterea lor şi determinarea bolii este în funcţie şi de vîrstă, copiii sub 5 ani făcînd boala serului în proporţie numai de 12,4%, iar cei în jur

de 15 ani în proporţie de aproape 47%. Ac reaginici sînt cei care produc reacţii anafilactice imediate în boala serului secundară, persistînd după prima imunizare sub formă de reagine fixate pe ţesuturi. Mediatorii chimici eliberaţi prin complexul Ag — Ac produc şocul anafilactic cu toate caracterele sale. Reaginele sînt IgE şi mai rar IgG sau IgA. În perioada de boală acută se găsesc şi în circulaţie, putînd fi testaţi prin reacţia de transfer cunoscută ca reacţia de anafilaxie cutanată pasivă. După perioada acută dispar din circulaţie însă rămîn fixaţi pe ţesuturi toată viaţa şi dau intradermoreacţia pozitivă, la Ag serice specifice. Sensibilizarea anterioară poate fi testată astfel prin intradermoreacţie pozitivă şi prin reacţia de hemaglutinare pasivă cu titru peste 1/200; prima pune în evidenţă reaginele IgE fixate, cea de a doua, prezenţa Ac hemaglutinanţi de tip IgG. Ac participanţi apar mai rar numai în formele severe, însă pot să persiste timp îndelungat. Rolul lor este mai puţin cunoscut în apariţia şi evoluţia simptomelor clinice. Tot în formele severe pot să apară Ac faţă de Ag Forssman prezente în serul de cal şi care determină reacţii imune eterospecifice în seroterapia masivă. Metodele de seroterapie cu gammaglobuline purificate diminuă reacţiile imune şi nu apar Ac anti-Ag Forssman.

Boala serului ca reacţie imună faţă de seruri eterospecifice diferă ca frecvenţă şi intensitate la fiecare specie după puterea imunizantă a serului administrat. Astfel, titrul de Ac faţă de serul de şoarece nu depăşeşte 1/800, cel de iepure, cobai şi şobolan 1/1, 1/600 şi respectiv 1/800, iar faţă de serul de cal Ac ajung la 1/512 000 sau mai mult. Cum boala serului este o boală a complexelor imune a căror mărime depinde de titrul Ac, ea nu poate să apară sau este foarte uşoară, după administrare de eteroseruri cu putere imunogenă slabă. Există însă unele reacţii încrucişate, în sensul că animalul şi chiar omul sensibilizat la serurile de cal pot face fenomene anafilactice şi boala serului după injecţia de ser de la alte animale.

Histopatologia şi histogeneza leziunilor. Leziunile prin complexe imune stau la baza alterărilor de tip III în clasificarea lui Coombs şi Gell. Boala serului este tip de boală prin complexe imune şi mecanismul leziunilor prin participarea componentelor celulare şi humorale a fost bine precizat după 1960, în special prin grupul de cercetători al lui Dixon (1963) şi al lui Ishizaka (1962). Complexele imune studiate imunochimic şi electronic se comportă ca agregate moleculare şi leziunile în ţesuturi sînt o consecinţă a eliberării de substanţe active prin acţiunea C′ şi degranularea bazofilelor cu eliberare de histamină. Într-o primă fază apar anafilatoxina, bradikinina, factorii de permeabilitate, de proliferare endotelială şi factorii chimiotactici şi aglutinanţi pentru leucocite şi trombocite. Apar de asemenea activatori ai coagulării şi ai fibrinolizei. Rolul factorilor $C'_{5.6.7}$ în eliberarea acestor substanţe, în aceste reacţii şi rolul factorilor C'_3 şi C'_5 în degranulare este bine precizat (Noff, 1972). Enzimele lizosomale eliberate de granulocitele neutrofile şi în parte de cele eozinofile determină leziuni necrotice în structurile colagene şi elastice care se adaugă la cele produse prin ischemia de tromboză a vaselor cu proliferare endotelială şi depunere de fibrină prin coagulare (Cochrane, 1971; Dixon, 1971).

În funcţie de cantitatea de Ac disponibili şi de afinitatea lor în formarea agregatelor cu fixare de C′ există o mare varietate în intensitatea leziunilor tisulare. Dacă titrul Ac este scăzut, agregatele sînt mici şi chiar

dacă persistă mai mult timp sînt eliminate şi nu produc leziuni sistemice. Ag imunogene în cantităţi mari şi titrul crescut de Ac produc agregate mari cu leziuni sistemice în toate ţesuturile, inclusiv în cord (pericard, miocard, endocard), rinichi, ficat, sistemul nervos central. În rinichi, leziunile sînt iniţial de glomerulită membranoasă şi apoi de glomerulită proliferativă asociată cu sechele cicatriciale de nefrită lobulară în urma obliterării anselor glomerulare. Leziunile de glomerulonefrită gravă, ca şi leziunile cutanate de P.A.N. apar rar în anumite forme severe, cînd se poate instala o self-perpetuare prin mecanisme noi ce pot duce la boli sistemice autoimune (Arbesman, 1965; Dixon, 1971). Pe această cale, boala serului apare ca un model de boală prin complexe imune, pasageră şi cu posibilităţi de autoîntreţinere. Pe de altă parte, bolile alergo-anafilactice prin sensibilizare la droguri se declanşează şi se pot perpetua după acelaşi mecanism.

Un model de *boala serului cronică*, care să reproducă unele boli umane cronice prin complexe imune, a fost realizat de către Dixon (1965) prin injecţii zilnice de Ag, timp de cîteva luni. Autorul a reprodus o glomerulonefrită cronică asemănătoare cu cea umană. Complexele care se formează în condiţii de exces de Ag cronic sînt mici şi în concentraţie redusă, astfel că nu produc leziuni în alte organe. Concentrate în rinichi, prin clearence de filtrare, produc leziuni în glomeruli care devin ireversibile şi se pot autoîntreţine. Pe această cale, Dixon susţine părerea, în general acceptată, că leziunile renale din bolile de colagen ca L.E.D., P.A.N., purpura disglobulinemică cronică se produc prin generarea continuă de complexe imune existînd o sursă permanentă de Ag, de natură variată autolog sau eterolog.

Principii de profilaxie şi tratament. Recomandarea generală profilactică este evitarea seroterapiei în bolile infecţioase, folosindu-se medicaţia antibiotică şi sulfamidică. În cazuri de indicaţii majore pentru seroterapie se vor testa predispoziţia la boala serului prin testele amintite, intradermoreacţia, titrul anticorpilor hemaglutinanţi. Dacă acestea din urmă sînt pozitive, titrul Ac depăşind 1/200, se va evita seroterapia sau se va folosi terapia imunobiologică cu Ig purificate. Eventual la acestea se pot asocia doze moderate de cortizon care inhibă răspunsul imun secundar.

În boala serului declanşată se vor trata simptomatic fenomenele anafilactice şi patogenic prin cortizon, evoluţia bolii prin complexe imune. În cazuri severe, cu leziuni vasculare trombozante, la corticoterapie se poate asocia terapia anticoagulantă.

B. IMUNOPATOLOGIA CARDITEI REUMATISMALE ŞI A ALTOR BOLI CARDIACE

Prinderea cardiacă din reumatismul poliarticular acut (R.P.A) poststreptococic constituie tipul de boală imună cardiacă cu Ag cunoscut. Leziunea de degenerescenţă fibrinoidă ca afectare specială a endocardului şi a valvulelor, precum şi nodulii reumatismali din miocard sînt leziuni prin complexe imune cu reacţie alergo-granulomatoasă. În ultimii 10 — 15 ani, pe lîngă boala reumatismală şi unele cardiopatii secundare din bolile imune bine dovedite (L.E.D., P.A.N. etc.) se atribuie un mecanism imun şi în

Scanned with OKEN Scanner

alte cardiopatii cu etiologie puţin cunoscută, ca sindromul secundar postinfarct de miocard, sindromul Dressler, sindromul postcomisurotomie sau unele cardiomegalii de cauză necunoscută, inclusiv endomiocardofibroza.

Reumatismul poliarticular acut (reumatismul cardioarticular specific, febra reumatismală) face parte din bolile imunoalergice în care leziunile de pancardită, care se produc prin depunere de complexe imune sau poate prin acţiunea toxică directă a Ac anti-fibră miocardică: există un Ag cunoscut ca şi în glomerulonefrita acută, care poate să determine formarea de complexe imune; acelaşi Ag poate de asemenea să determine Ac cross-reactanţi faţă de fibra miocardică. Leziunile endocardo-valvulare cu predominanţă de degenerescenţă fibrinoidă ar fi determinate în special prin depunerea de complexe imune (Kaplan şi colab., 1964; Lannigan şi Zaki, 1967); leziunile de degenerescenţă miocardică par să fie mai ales prin Ac cross-reactanţi.

Ca etiologie, se ştie că predomină infecţiile de streptococ hemolitic din grupa A; spre deosebire de glomerulonefrita acută unde intervin numai cîteva tipuri, cardita reumatismală poate fi determinată de fiecare din cele 50 de tipuri ale grupului A. Într-o epidemie cu infecţie streptococică amigdalo-faringiană, glomerulonefrita apare cam la 40% din cazuri, pe cînd boala reumatismală abia la 2 — 3% (Rammelkamp, 1955). Febra reumatismală este mai frecventă la tineri şi mai rară la bătrîni. Frecvenţa la tineri este legată de incidenţa mare a infecţiilor streptococice la aceştia şi susceptibilitatea lor de a reacţiona cu creşteri de Atc tip ASLO. Există o diferenţă între purtătorul de infecţii streptocococice cu creştere de ASLO şi cei fără creştere; primii fac boala cu o frecvenţă mult mai mare, febra reumatismală apărînd la 15 — 78% (Mc. Carty, 1955; Taranta, 1961). Aceste date cu caracter clinicostatistic au ridicat problema unor dereglări imune care să determine febra reumatismală. Întrucît încercările experimentale de pînă acum nu au putut reproduce boala clinică şi morfologică, febra reumatismală este considerată ca o afecţiune specific umană (Wagner, 1965), cu o patogenie imună specială în producerea leziunilor specifice, nodulii Ashoff.

Infecţia streptococică şi tabloul imun al febrei reumatismale. Din punct de vedere imunologic, la bolnavii în plină evoluţie de febră reumatismală s-au dovedit cele două tipuri de hipersensibilizare: imediată şi tardivă. Hipersensibilitatea imediată constă din creşterea foarte mare a Ac faţă de cîteva din Ag structurale ale streptococului. În perioada de boală, înainte de primul puseu sau de recidive, apar titruri mari de Ac antistreptolizină, antihialuronidază sau antistreptokinază. Există totdeauna creşteri de alfa $_2$-globuline, de IgG, IgM şi IgA şi de proteină C reactivă, considerată eronat ca specifică pentru boala reumatismală activă. Este de remarcat că titrul complementului rămîne constant în limite normale sau chiar creşte. Toate aceste modificări imune apar numai la persoanele cu infecţie streptococică care fac boala reumatismală. În plus, se constată că răspunsul imun hiperreactiv al reumaticilor este specific faţă de streptococ, întrucît faţă de alte Ag aceştia se comportă ca şi normalii (Cluff şi Johnson, 1965).

Pe lîngă Ac faţă de Ag streptococice la aproape 80% din cazuri există Ac faţă de ţesutul miocardic detectaţi prin unul sau mai multe din testele utilizate ca R.F.C., R.H.B., reacţia de consum de antigobu-

Scanned with OKEN Scanner

lină (Felsh, 1966). Reacţiile sînt pozitive numai la cei cu boala activă şi pot persista pînă la 3 luni sau chiar pînă la un an după remisiunea clinică. Nu corespund în general cu reacţiile imune nespecifice care pot să dispară mult mai devreme. *Ac anti-proteină M* consideraţi ca specifici pentru boala activă sînt determinaţi de proteina antigenică specifică din peretele streptococului, comună cu o fracţiune proteinică din miofibrile. Pare să aibă o importanţă majoră în fenomenele de cross-reacţie şi de autoîntreţinere.

Deşi prezenţi şi în alte infecţii streptococice, toţi aceşti Ac apar cu titru înalt numai în cardita reumatismală activă (Zabriskie şi Freiner, 1966).

Hipersensibilizarea specifică faţă de Ag streptococice se constată şi prin testele cutanate ca şi prin unele teste imune *in vitro*; ele nu sînt însă teste specifice pentru diagnostic sau prognostic. Există un răspuns imun tardiv cutanat ca semn al unei imunizări de bază, comparabilă cu hipersensibilizarea de tip tuberculinic. Încercările de desensibilizare specifică în scop terapeutic nu au dat însă rezultate. Hipersensibilitatea se confirmă însă şi prin reacţiile de transformare blastică a Lc *in vitro* în prezenţa Ag streptococice (Halpern şi colab. 1967). După alţi cercetători, deşi reacţia de transformare blastică la PHA este pozitivă, reacţiile la Ag streptococice *in vitro* sînt inconstante.

Semne biologice de reacţie imună de tip imediat şi tardiv se găsesc în organele limfohematopoetice unde există bogate acumulări de Lc şi plasmocite, mai ales în măduva osoasă (Berceanu şi colab., 1958). În culturi *in vitro*, explantele de ganglion limfatic sau de măduvă osoasă de la bolnavi cu febră reumatismală activă se constată o intensă transformare a Lc în plasmocite şi o dispoziţie bogată în peri- şi emperipoleză a Lc faţă de fibroblaste sau celule epiteliale (Berceanu şi colab., 1967).

Leziunile anatomo-patologice alergice specifice pentru febra reumatismală sînt reprezentate de structura nodulului Ashoff din miocard, subendocard şi cordajele valvulelor. Microscopic se constată o zonă de degenerescenţă fibrinoidă, în care apar celule Ashoff caracteristice, bazofile mono-şi binucleate, iar în jur acumulări de Lc, plasmocite şi, uneori, polinucleare eozinofile, neutrofile, fibroblaste.

Date noi asupra structurii electronice şi histochimice s-au adus în ultimul timp prin cercetările făcute pe materialul prelevat în timpul intervenţiei chirurgicale pentru stenoza mitrală (Murphy, 1960). Materialul bioptic provenit de la 874 de cazuri, studiate în ultimii 10 ani de către Wagner (1965), pune în evidenţă noduli activi numai la 12,3% din cazuri, iar noduli hialinizaţi la 40%. Se remarcă predominanţa gammaglobulinei şi absenţa Ag streptococice. Celulele din nodulul Ashoff au aceeaşi structură citochimică ca histiocitele miocardului („celulele Anicikov") şi nu sînt miofibre degenerate, aşa cum a crezut Murphy (1960). Nodulul Ashoff apare astfel ca o leziune patognomonică pentru febra reumatismală umană; leziunile considerate reumatismale, obţinute de Rich şi Murphy, sînt leziuni alergice nespecifice.

Patogenia leziunilor şi evoluţia bolii reumatismale. Existenţa unei anumite susceptibilităţi constituţionale pentru febra reumatismală este susţinută avînd în vedere incidenţa sa scăzută, în raport cu frecvenţa

Scanned with OKEN Scanner

mare a infecţiilor streptococice. Există însă autori care susţin că nu se găsesc indicatori specifici pentru o susceptibilitate constituţională. Astfel, se citează gemeni univitelini dintre care numai unul face boala reumatismală. În plus, bolnavii cu febră reumatismală prezintă o reactivitate imună normală faţă de alte infecţii microbiene, presupunîndu-se deci că nu există o anumită predispoziţie genetică de reactivitate imună.

Probleme speciale ridică unele date de epidemiologie, care arată că boala apare în special după infecţiile streptococice amigdalo-faringiene şi ale căilor respiratorii superioare, foarte rar după injecţiile cutanate şi deloc după infecţiile steptococice puerperale.

Glynn şi Holborow (1952) susţin că streptococii din căile superioare s-ar putea cupla cu un anumit factor polizaharidic, haptenic din aceste ţesuturi. Secreţia anumitor substanţe polizaharidice poate să determine susceptibilitatea pentru febra reumatismală ,în urma recombinării antigenice dintre fracţiunile structurale streptococice şi polizaharidice secretate (Glynn şi Holborow, 1965).

Studiile făcute pe copii normali şi reumatici au arătat o anumită relaţie între distribuirea Ag de grupă sanguină, A, B, H şi incidenţa febrei reumatismale. S-a urmărit în special distribuţia Ag H^+ secretat în salivă şi a celui nesecretat (H^-). Tipurile nesecretante de H secretă obişnuit Ag Le (a). După Glynn şi Holborow, se constată că distribuţia tipului secretor Le (a) este mai mare în grupul copiilor reumatici. Autorii conchid că există un exces de grup ABH nesecretori la reumatici. Se precizează că reumaticii sînt purtătorii unor alele recesive (sc) din perechea de gene (+Sc şi -Se) care controlează secreţia ABH. Tipul nesecretor posedă perechile sese, pe cînd tipul secretor posedă perechile SeSe şi Sese(respectiv omozigoţi şi eterozigoţi).

Existînd unele date asupra predispoziţiei genetice, cunoscîndu-se factorul etiologic şi profilul clinico-biologic al bolii, problema de patogenie constă în stabilirea mecanismului prin care infecţia streptococică produce întregul complex patologic al bolii. S-a dovedit experimental acţiunea toxică directă pe miocard a toxinelor streptococice (Halbert şi colab., 1961); pînă acum însă Ag toxinelor streptococice nu s-au pus în evidenţă în leziunile reumatismale la om (Wagner, 1965).

Ipoteza hipersensibilităţii imediate locale, susţinută de Rich şi Klinge, se aplică în general leziunilor reactive, dar nu şi leziunilor reumatismale.

Ipoteza leziunilor de tip III (Dixon şi colab.) prin complexe imune se poate susţine în perioada acută cînd se pot forma complexe de Ag streptococice circulante şi de Ac. Boala apare după o perioadă de incubaţie, ca şi boala serului, cînd au apărut Ac faţă de Ag streptococice. În leziunile fibrinoide din cord s-au pus în evidenţă Ig cu predominanţa de IgG, depunerile de IgA şi IgM fiind sărace, şi globuline $beta_1C$ şi $beta_1E$ complement; acestea însă nu s-au găsit în focarele specifice cu noduli Ashoff, iar Ag streptococice care să determine reacţii imune specifice lipsesc complet.

Explicaţia fenomenelor reumatismale acute în funcţie de reactivarea infecţiei streptococice rămîne totuşi posibilă. În orice puseu reumatismal există o reactivare imună anticorpică cu prezenţă de plasmocite în măduvă şi ganglioni (Berceanu şi colab., 1958; Teilum, 1963), conco-

mitent cu creşterea Ac de tip ASLO. Se poate ca în boala clinică leziunile să se producă într-o scurtă perioadă de descărcare antigenică în sînge, cînd concentraţia acestora permite formarea de complexe Ag — Ac nocive. Ulterior, procesele imune fac să scadă concentraţia Ag pînă la dispariţie, rămînînd numai Ac; în boala reumatismală, aceştia trebuie consideraţi ca semn de evoluţie bună, cu anihilarea Ag streptococice. Nu se explică însă absenţa Ag din leziune şi nici menţinerea în titru normal a C′ seric. Pentru aceasta, teoria complexelor imune, generate de Ag streptococice, trebuie completată cu ipoteza autoimună a lui Kaplan. Infecţia streptococică, care determină orice puseu reumatismal, pune în circulaţie Ag toxice, care pot sau nu să producă leziuni tisulare, dar care declanşează formarea de Ac cu acţiunea cross-reactantă pentru Ag streptococice şi cele miocardice.

Ipoteza lui Kaplan se bazează pe existenţa unor componente antigenice comune între structurile streptococice şi ale fibrei miocardice. Infecţia streptococică determină o reacţie imună anticorpică, care poate să anihileze această infecţie, fiind absentă în perioada de latenţă a febrei reumatismale. Ac antistreptococici posedă însă reacţie încrucişată cu structurile miocardice. Acţiunea antimiocardică directă cu fixarea de C′ produce leziunile de boală reumatismală ca în orice proces de reacţie Ag—Ac asupra unui ţesut cu leziuni toxice de tip II. Kaplan (1960 — 1965) a găsit, prin imunofluorescenţă, componentele IgG în leziuni, arătînd că Ac serici se fixează specific pe structurile miocardice. Autorul distinge o fracţiune care se leagă de sarcoplasma subsarcolemică şi alta care se leagă de sarcoplasma intermiofibrilară. Holborow şi Glynn remarcă incidenţa reacţiilor pozitive a serurilor de reumatici cu subfracţiunile celulare. Autorii găsesc în plus Ac fixatori de C′ pentru extractele antigenice alcoolice de cord uman, precum şi reacţii pozitive în testele de floculare cu latex. Kaplan a izolat Ag specifice din fibra miocardică ca Ag de organ, cu anumite proprietăţi fizice. Aceste Ag au determinante comune cu grupul A streptococic. Datele statistice ale lui Kaplan nu sînt însă foarte concludente. Astfel, Ac faţă de Ag subsarcolemice apar în 14,9% din cazurile de febră reumatismală acută şi în 69% în reactivările după valvulectomie. Faţă de Ag interfibrilare, Ac apar în 15% de boală reumatismală şi în 27,2% în cazurile evolutive de L.E.D. Incidenţă moderată de Ac subsarcolemici se găsesc şi în P.C.E., hepatita cronică etc. Ipoteza lui Kaplan totuşi rămîne cea mai promiţătoare, întrucît leagă acţiunea toxică iniţială a Ag streptococice asupra miocardului de reacţia imună cu complexe Ag — Ac faţă de etero-Ag streptococice circulante. Ac streptococici, prin reacţie încrucişată, devin acum auto-Ac faţă de structurile miocardice. În această secvenţă de reacţii se atribuie un rol deosebit eliberării de enzime lizosomale, consecinţă a procesului de liză celulară în care se distruge citoplasma. Teoria autoimună, parţial dovedită prin acţiunea specifică a Ac, nu a putut dovedi însă efectul patologic al acestora pe structurile miocardice. După Wagner, reacţia anticorpică apare ca un epifenomen, leziunile producîndu-se prin alte mecanisme; se explică astfel prezenţa de Ac crescuţi în perioada de convalescenţă. Dificultatea tuturor teoriilor constă în explicaţia self-perpetuării.

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere practic, *testele imune*, pentru aprecierea evoluţiei trebuie judecate cu prudenţă în contextul clinic şi epidemiologic.

Profilaxia şi terapia trebuie să aibă în vedere eliminarea focarului streptococic şi prevenirea reapariţiei sale prin procedee terapeutice antiinfecţioase, care se aplică astăzi mai ales la tineri. În afara acestui tratament etiologic, curativ şi profilactic, tratamentul bolii ca leziune şi alterare imună are încă un caracter simptomatic: medicaţia antiinflamatorie pe bază de salicilat şi piramidon. Terapia cortizonică este eficientă în primul rînd prin acţiunea sa antiinflamatorie şi probabil mai puţin printr-o acţiune imunosupresivă. Este posibil să existe şi un efect protector al cortizonului asupra membranelor lizosomiale şi pe această cale să se elimine una din verigile cercului vicios presupus în mecanismul autoimun (Wagner, 1965).

Implicaţii imunoreactive în alte boli cardiace. Se atribuie mecanisme imunopatogenice în anumite cardiopatii care par să aibă un caracter idiopatic şi în care se găsesc leziuni histopatologice cu caracter imunoreactiv, precum şi auto-Ac mai mult sau mai puţin specifici pentru ţesutul miocardic.

În urma cercetărilor lui Gaydusek (1958) se ştie că Ac fixatori de C′ faţă de Ag tisulare variate, inclusiv miocardice, se pot găsi în multe afecţiuni cronice sistemice de cauză cunoscută sau necunoscută. Aplicarea altor metode serologice au pus în evidenţă Ac antimiocardici prin reacţia de hemaglutinare Boyden, ca şi prin testul de consum al antiglobulinei şi teste variate de imunofluorescenţă, în miocardiopatii de cauză necunoscută şi în sindromul Dressler după infarctul miocardic, precum şi în pericardita benignă recidivantă (Robinson şi Brigden, 1968). Ac diferă de cei găsiţi în cardita reumatismală, fiind specifici atît pentru muşchii scheletici, cît şi pentru muşchii netezi şi avînd o cross-reacţie faţă de Ag streptococice.

În prezent se consideră că mecanismul autoimun cu producere de leziuni mai mult sau mai puţin specifice şi cu generarea de Ac antimiocard apare în două situaţii etiopatogenice: 1), infecţii virale cu afinitate pentru cord şi vase; 2), condiţii de alterare a ţesuturilor cardiace cu eliberarea de Ag tisulare în infarctul de miocard sau după intervenţii chirurgicale pe cord, pericardotomii, comisurotomii, grefe de valvule (Williams, 1965).

Cardiopatiile virale sînt descrise la copii în special, mai rar la adulţi. Clinic există o fază de astenie, cu algii generale, apoi o fază febrilă cu manifestări cardiace de la tulburări de ritm simple pînă la aritmii grave şi insuficienţă cardiacă. Pericardita benignă cu recidive apare ca o formă mai bine caracterizată în cadrul infecţiilor virale (Robinson şi Brigden, 1968).

Investigaţiile speciale au determinat în perioada activă în diverse produse biologice şi mai ales în ţesutul miocardic după necropsie prezenţa de virus Coksackie B la 30% din cazuri, precum şi alte virusuri, ca virusul *influentae* al mononucleozei infecţioase, al choriomeningitei limfocitare, al poliomielitei. Nu se cunoaşte relaţia infecţiei virale cu apariţia Ac antimiocardici. De asemenea nu sînt relaţii sigure cu leziunile miocardice şi pericardice, dealtfel cu totul nespecifice: focare de mio-

Scanned with OKEN Scanner

cardită degenerativă, peteşii hemoragice, edem interstiţial, infiltraţii mononucleare.

Tratamentul nu are nimic specific; acţiunea favorabilă a cortizonului nu a fost dovedită (Kaplan, 1971). În cazurile cu tulburări grave de ritm şi insuficienţă cardiacă se face terapia obişnuită a acestora, aşteptîndu-se o remisiune spontană a infecţiei virale.

Sindroamele secundare pericardo-miocardice care apar după infarct de miocard şi după intervenţii chirurgicale sînt atribuite unui mecanism imun, atît prin caracterul lor idiopatic, cît şi prin punerea în evidenţă de auto-Ac în acea perioadă. În plus, în leziuni s-au găsit depuneri cu caracter imun, ca Ig şi fibrină.

Miocardiile sau miocardopatiile idiopatice descrise mai de mult de autorii francezi (miocardiile lui Laubry) şi conturate mai tîrziu sub diverse denumiri se consideră ca autoimune, pe aceleaşi criterii serologice şi histopatologice, precum şi prin depunerea de materiale imune în leziuni. Nu există însă nici o dovadă asupra rolului auto-Ac în producerea lor. Depunerile de Ig şi de fibrinogen pot să fie secundare leziunilor de inflamaţie de altă natură. De asemenea, Ac antimiocardici, aşa cum au arătat Gaydusek şi Mackay, se găsesc şi în alte afecţiuni sistemice cu atingere mezenchimală şi parenchimatoasă (Fletcher şi Wenger, 1968). Intervenţia infecţiilor virale, deşi precizată uneori, nu se dovedeşte a avea un rol patogenic.

În *bolile de colagen*, mai ales în L.E.D., P.A.N., P.C.E., dermatomiozită, atingerea cardiacă este obişnuită. De semnalat prezenţa în leziuni de Ig şi fracţiuni de C′. Cazurile de amiloidoză cardiacă primară considerată ca primitivă sînt în general determinate de boli autoimune cu disgammaglobulinemii prin proliferări limforeticulare reactive sau maligne.

Endomiocardofibroza este de asemenea o cardiopatie idiopatică, relativ frecventă în ţările africane, dar semnalată şi în Europa şi la noi în ţară (Teodorescu şi colab., 1957). Unii cercetători care au pus în evidenţă Ac antimiocard la 53—71% din cazuri şi prezenţa de crioglobuline în ser (IgM—IgG) presupun existenţa unui mecanism autoimun (Shaper şi colab., 1967). În leziunile de scleroză miocardică cu degenerescenţă fibrilară s-au găsit Ig şi fibrină. Nu se cunoaşte cauza self-perpetuării şi apariţia auto- Ac, deşi s-au incriminat Ag malarice în cazurile din Africa. Mecanismul imun care să explice evoluţia fatală rămîne nedovedit. De aceea. tratamentele de bază etiopatogenică şi cele imunosupresive nu dau rezultate.

C. IMUNOPATOLOGIA GLOMERULONEFRITELOR

Implicaţiile imune în nefropatiile glomerulare sînt semnalate printre primele în cadrul mecanismelor imunopatologice. Bordet, urmărind acţiunea serurilor citotoxice în laboratorul lui Metchnikoff, remarcă afectarea glomerulilor la animalele injectate cu anumite seruri.

Mecanismele imune în nefropatii capătă o importanţă deosebită după cercetările clasice ale lui Masugi în jur de 1935, care realizează nefrita acută experimentală cu ser nefrotoxic eterolog. În ipoteza lui Masugi, acest ser ar produce leziuni directe asupra parenchimului renal ca în mecanismul de leziuni alergice de tip II. Urmează apoi alte modele experimentale dintre care ale lui Cavelti, înainte de 1950, şi mai tîrziu ale lui Germuth

Scanned with OKEN Scanner

şi Dixon, după 1955 şi în special în perioada 1965. În modelul experimental al lui Cavelti se obţin leziuni renale prin tratarea animalelor cu Ag renale eterologe în amestec cu toxine streptococice sau în adjuvant Freund. Leziunile sînt interpretate ca efect al Ac dezvoltaţi la animalele injectate faţă de complexe antigenice în care Ag renal apare ca o haptenă. Între 1960 şi 1963, printr-un model apropiat prin izoimunizare cu Ag renale şi adjuvant Freund, am obţinut leziuni renale caracteristice, împreună cu Iliescu şi Radu, la cobai şi iepuri (Iliescu şi colab., Berceanu şi colab.). În modelele experimentale ale lui Germuth şi ale lui Dixon şi colab., leziunile sînt determinate, ca şi în boala serului, prin efectul toxic al complexelor Ag- Ac şi C′, ca în leziunile de tip Arthus. În perioada de după 1965, cercetările de patologie experimentală urmăresc să reproducă leziunile din diferite forme de nefropatii glomerulare ce apar la om. Progresul făcut în această perioadă se datoreşte metodelor noi de studiu al leziunilor renale, în special prin analiza imunochimică cu metode de imunofluorescenţă şi de analize prin microscopie electronică. În prezent, rezultatele obţinute prin metodele Masugi şi Cavelti rămîn valabile, avînd însă altă interpretare decît cea originală.

În patologia umană s-a urmărit punerea în evidenţă a mecanismelor imune în formele clasice de glomerulonefrită acută difuză poststreptococică şi în grupul mare polimorf de glomerulonefrite cronice (Vernier şi colab., 1971; Michael şi colab., 1966, 1971) în care intră în primul rînd aşa-zisa glomerulonefrită cronică cu scleroză renală de tip Bricht. Sindromul nefrotic este studiat mai ales în cadrul altor forme de nefropatii, inclusiv în cea lupică.

Ca *etiologie* se consideră ca bine cunoscută numai etiologia glomerulonefritei acute poststreptococice. Aceasta apare prin infecţii amigdaliene, în special cu streptococul hemolitic din tipurile nefritogene 4, 12, 24, 49 (Kaplan şi colab., 1970; Michael şi colab., 1966). Studii serologice şi epidemiologice au arătat că în perioadele epidemice, incidenţa glomerulonefritei acute apare la 13—37 % din cazuri de infecţie streptococică. Există o frecvenţă mare în unele condiţii de infecţii streptococice cutanate, unde predomină tipul streptococic cu Ag T şi mai puţin tipul cu Ag M din infecţiile faringiene.

Ac circulanţi antistreptococici se găsesc în majoritatea cazurilor în perioada acută, ca şi în boala Schönlein-Henoch. Există un număr însemnat de cazuri fără Ac, în general după tratamentul precoce cu penicilină. Agenţii etiologici în afara streptococului sînt mai rar puşi în evidenţă în unele forme mai deosebite de glomerulonefrită acută. Astfel, cazuri rare de nefropatii în infecţia cu malarie Quarta (Ward, 1969) sau în nefrita din endocardita lentă, sau mai puţin dovedite prin infecţiile virotice faringiene cu virus Echo (Jensen, 1967) sau virus Coksackie (Burch şi Sun, 1968), unde s-au făcut studii de analiză imunochimică.

În grupa polimorfă de glomerulonefrite persistente, ca glomerulonefrita cronică, în general nu se pune în evidenţă un factor etiologic exogen. Este discutabilă etiologia iniţială streptococică la cei cu antecedente de glomerulonefrită acută care apare la mai puţin de 10 % din cazuri sau numai la 2 %. De asemenea, etiologia streptococică sau cu alte Ag poate să fie incriminată în nefrita din purpurele Schönlein-Henoch cronice care apare la 5—14 % din cazuri. Forme speciale de evoluţie variabilă cu etiologie discu-

tabilă, dar cu mecanism patogenic sigur apar glomerulonefrita din sindromul Goodpasture şi forma recent conturată de glomerulonefrită cu hipocomplementemie (West, 1965 ; Herdman şi colab., 1970).

Investigaţiile imune pe bolnav, concomitent cu studii experimentale cu material uman au dovedit natura imună a glomerulonefritei acute sau cronice pe două căi de investigaţie metodologică.

1) *Caracterele imune ale leziunilor morfologice şi analiza imunochimică.* Morfologia clasică distinge leziunile de glomerulonefrită acută şi cele de glomerulonefrită cronică.

În glomerulonefrita acută sînt bine cunoscute tipurile de leziuni descrise de Volhard şi Fahr şi caracterizate fiziopatologic de Allen ca glomerulite acute de tip proliferativ inflamator, predominant glomerular, şi leziunile din capsula lui Bowman cu formare de semilune prin depunerea de material eozinofil şi infiltraţie inflamatorie granulocitară. În sindromul nefrotic pur sau asociat glomerulonefritei se produc leziuni de degenerescenţă şi necroză fibrinoidă în care se disting leziunile de glomerulită membranoasă şi de glomerulită proliferativă sau leziuni asociate membranei proliferative (Allen, 1960 ; Vernier, 1971).

În glomerulonefrita cronică se distinge în general glomerulonefrita lobulară care duce la hialinizare, pînă la dispariţia completă a anselor glomerulare.

2) *Modificări chimice humorale şi caracterele imunohistochimice ale leziunilor.* Mecanismul imun al leziunilor se dovedeşte în unele nefropatii cu o metodologie care corespunde postulatelor formulate de Witebsky (după Koch). Este posibil să se izoleze un factor etiologic, care injectat la animale să producă leziuni asemănătoare. Este vorba de fracţiunile antigenice de membrană bazală care se elimină normal în urină şi care produc Ag specifice şi leziuni de membrană după injecţia lor la animale. Sintetizînd cercetările complexe din ultimii 4—5 ani (Dixon, Michael, Vernier, Mc. Cluskey), mecanismul imun al leziunilor renale se pune în evidenţă prin următoarele : a) dispoziţia liniară sau granulară neregulată în glomeruli a precipitatelor imune care se colorează prin metode de imunofluorescenţă şi corespund materialului opac din microscopia electronică ; *b*) structura imunochimică a materialului precipitat în ansele glomerulare în care se precizează participarea Ag, Ac, C′ sau a properdinei şi ca element secundar fibrina ; *c*) modificări humorale specifice cu prezenţa de Ag sau de Ac circulanţi şi cu scăderea C′ sau a properdinei.

Încercările de a corela toate aceste date cu un anumit tip chimic, etiologic şi evolutiv, au dus la rezultate pozitive, astfel că metodele imunochimice pot să fie folosite pentru diagnosticul unui anumit tip de nefropatie. De remarcat că în anumite centre s-a acumulat un material imens în care diagnosticul s-a precizat prin imunofluorescenţă în peste 1 000 de analize (Mc. Cluskey, 1971). Confruntate cu rezultatele experimentale ale lui Dixon, rezultatele clinice recente arată două tipuri principale de dispoziţie a materialului imunofluorescent în glomeruli : lamelară, de-a lungul membranelor bazale, şi în granule neregulate, aşezate fără ordine de-a lungul membranelor bazale.

Dispoziţia lamelară este fidel reprodusă în experienţele de tip Masugi şi Cavelti, prin adaptarea făcută de Dixon folosind Ag renale purificate. Confruntările cu examenele electronice arată aşezarea materialului mono-

morf neargentofil la coloraţia Gömöri de-a lungul membranei bazale, între aceasta şi endoteliu şi înăuntrul membranei sau în afara membranelor spre mezangium. Analiza imunochimică prin seruri marcate înalt specifice demască structura imună a acestor depozite, cu prezenţa de IgG şi de C'_1. În nefritele prin injecţii de extracte de membrane bazale, Dixon şi colab., (1971) şi Cochrane şi colab. (1971) au izolat prin eluţie fracţiunile de IgG care se dovedesc a fi Ac antimembrană bazală atît prin reacţii imune *in vitro*, cît şi prin fixarea lor specifică liniară pe membranele bazale după incubare cu secţiuni proaspete de rinichi. Prezenţa obişnuită a fibrinei, alături de ceilalţi factori imuni explică perpetuarea leziunilor spre scleroză şi hialinizare. Ag nu apar în acest tip de leziuni întrucît ele sînt reprezentate de însăşi structurile colagenice ale membranelor bazale care au intrat în combinaţie imună cu Ac şi C′. Acest tip de leziune liniară este caracteristic acţiunii toxice directe a Ac-antirenali, cu sau fără C′, situaţie reprodusă foarte bine experimental însă întîlnită numai în anumite nefropatii la om ca sindromul Goodpasture. În acest sindrom cu etiologie necunoscută, mecanismul autoimun prin Ac-antimembrană bazală este bine dovedit. În alte nefropatii, dispoziţia liniară se întîlneşte foarte rar şi în general combinată cu tipul glomerular, ca în unele forme de glomerulonefrită cronică sau cu evoluţia progresivă subacută (Mc. Cluskey, 1971).

Coroborarea modificărilor histochimice glomerulare cu cele humorale în patologia experimentală arată prezenţa de Ac circulanţi sau de Ag circulante. La om, după cercetările lui Dixon, Ac antimembrană bazală se întîlnesc rar şi în titru scăzut, considerîndu-se că se fixează pe membranele bazale. În cazuri de nefrectomie în vederea transplantării de rinichi, titrul Ac creşte, scăzînd ulterior cînd se presupune că se depun în rinichiul grefat. Mecanismul imunologic antirenal continuă deci şi după grefare şi de aceea Dixon recomandă tratamentul imunosupresiv atît pentru scăderea reacţiilor de rejecţie a grefei, cît şi pentru protecţia ei faţă de un mecanism autoimun deja existent (Milgrom, 1965, 1971). C′ este scăzut în nefritele cu Ac anti-renali, însă de asemenea într-un număr limitat de cazuri. Scăderea sa denotă o evoluţie gravă ca în orice nefropatie.

Dispoziţia în granule neregulate în glomeruli se întîlneşte în cele mai multe glomerulopatii din patologia umană şi reprezintă modelul tip imunohistochimic de boală prin complexe imune Ag— Ac —C′. Leziunile de membrană glomerulară, cu îngroşare şi proliferare, cu sau fără infiltraţie inflamatorie ca în boala serului şi P.A.N., se datoresc precipitării complexelor imune reţinute în ansele glomerulare cu depunere granulară în membranele bazale între acestea şi endoteliu şi în mezangium care proliferează şi se îngroaşă. Cluskey remarcă o incidenţă mare a acestor leziuni în nefritele umane. Analiza făcută în glomerulonefrita acută poststreptococică şi pe un număr mare de cazuri de glomerulonefrită cronică arată 3 aspecte : 1) prezenţa Ac de tip IgG şi mai rar a IgA cu absenţă de factor C′ şi întotdeauna prezenţa de fibrină (Katz şi colab., 1968); 2) prezenţa acestor trei componente şi foarte rar prezenţa Ag streptococice (Vernier, 1971; Michael şi colab., 1966, 1971); 3) prezenţa numai de fibrină şi C′. Absenţa Ag se explică greu, ca şi a IgG; este posibil ca acestea să fie mascate de factorii C′ sau să fie în cantitate foarte mică nedecelabilă de metodele de investigaţie.

Scanned with OKEN Scanner

În multe din glomerulonefritele cronice şi în sindroamele nefrotice, Ag pot fi endogene, poate chiar Ag de membrane bazale sau poate Ag virale cum se dovedeşte în nefritele experimentale sau în boala spontană la animalele purtătoare de virusuri (Notkins, 1971; Oldstone şi Dixon, 1971). Ag endogene de natură nucleoproteinică se dovedesc în nefrita din boala lupică (Kirshnan şi Kaplan, 1967); Dixon, 1971). Ag exogene s-au găsit apoi în cazuri rare, dar foarte semnificative pentru mecanismele imune în sindromul nefrotic al copiilor africani după crizele de malarie cu falciparum. La şoarecele NZB/W, sindromul nefrotic de natură genetică pune în evidenţă un experiment al naturii de patologie imună, prin care se pot explica multe situaţii din patologia umană.

O formă de glomerulonefrită imună aparte este *glomerulonefrita cu scădere de C′* (West şi colab., 1965; Gotoff şi colab., 1965; Ogg şi colab., 1968; Herdman şi colab., 1970; Camerun şi colab., 1970). Caracteristic acestei entităţi este tipul de leziune glomerulară cu depunere de complexe imune perilobulară asociată cu scăderea C′ seric global C′—H_{50} şi în special a factorului C'_3. Se consideră însă că aceşti parametri imunochimici se pot întîlni şi în alte glomerulonefrite cronice sau subacute cu evoluţie gravă, inclusiv în glomerulonefrita lupică şi în sindromul nefrotic pur.

Recent, Michael şi colaboratorii au analizat caracterele specifice ale grupului pe 29 de cazuri, prin 49 de examene imunohistochimice. Histologic, unele au caractere de glomerulonefrită subacută sau cronică lobulară, cu hiperplazie mare în mezangium, cu deplasarea şi ruptura membranelor bazale prin depunere granulară perilobulară caracteristică de IgG şi C′. În unele cazuri, alături de C'_3, în membranele bazale se găsesc depozite de properdină, demonstrînd activarea C′ prin calea asociată (Gewurz şi colab., 1968; Pickering şi colab., 1968; Vallota şi colab., 1970). În ser scade C′—H_{50} global, C'_3 şi properdina (factorul B), rămînînd normali primii factori ai C′, C'_1, C'_4 şi C'_2 (Noff, 1972). În alte cazuri s-a descris o acţiune dublă atît prin properdină, cît şi prin factorii $C'_{1,4,2}$ care scad în plasmă concomitent cu C'_3, properdina şi C′—H_{50} ca în L.E.D. (Westberg şi colab., 1971). În forma sa tipică descrisă de West, Michael şi colaboratori, glomerulonefrita lobulară cu scădere de C′—H_{50} se întîlneşte la copii între 4 şi 14 ani, cu hematurie şi asociere de sindrom nefrotic la 17 din 29 de cazuri. Are o evoluţie în general gravă, subacută sau cronică progresivă, moartea survenind în primii 4 ani de evoluţie.

Se poate conclude că, deşi nu se găsesc Ac circulanţi în plasmă în toate cazurile, iar Ag sînt foarte rare în depozitele imune, mecanismul de autoîntreţinere în formele cronice şi subacute de glomerulonefrite este un mecanism autoimun. În ipoteza noastră propusă în „Imunologie şi imunopatologie" (1968) se instalează un mecanism autoimun prin formarea continuă de complexe cu Ag proprii sau prin persistenţa de Ag străine ca cele virale, aşa cum s-a găsit în boala lupică (Gyorkey şi colab., 1971). În boala lupică, autoîntreţinerea se face prin complexe imune faţă de nucleoproteinele proprii; în glomerulonefrita cronică şi în cea din boala Schönlein-Henoch cronică poate să existe un deficit imun care determină recidive infecţioase cu leziuni toxice directe pe membranele bazale sau prin generarea de noi complexe imune.

În practica clinică, implicaţiile mecanismelor imune sub toate formele apar atît în problemele de diagnostic şi de evoluţie, cît şi de tra-

Scanned with OKEN Scanner

tament. Practica biopsiei renale cu analiza imunochimică precizează natura leziunilor de tip toxic direct prin Ac sau prin complexe imune; precizează, în plus, formele cu hipocomplement, prin fixarea fracţiunilor O′ şi a properdinei în leziuni şi cu scăderea lor în plasmă.

În terapie, autoperpetuarea prin mecanisme imune poate fi întreruptă prin metodele actuale de imunosupresie citostatică sau biologică cu ser antilimfocitar sau prin cateterism de canal toracic cu scăderea Lc circulante. Formele histologice de glomerulită proliferativă răspund bine la cortizon, pe cînd formele de glomerulită membranoasă răspund prost sau deloc. Terapia citostatică bine condusă sau imunosupresia biologică, în anumite cazuri poate să suprime cercul vicios de autoîntreţinere la nivel de imunoproliferare în organe imune (Bruckner şi colab., 1969). Avînd în vedere deficitul imun posibil ca bază a mecanismului de autoîntreţinere, terapia imunodepresivă se va conduce cu mare prudenţă şi se va întrerupe în caz de recidivă infecţioasă. Soluţia actuală terapeutică în transplantarea de rinichi, în contextul condiţiilor imune de autoîntreţinere indică noi probleme; self-perpetuarea imună poate să continue şi să aibă efecte asupra grefei de rinichi, efecte care se adaugă la cele prin reacţiile izologice de rejecţie a grefei.

D. PURPURA ALERGICĂ CAPILARO-TOXICĂ

(Boala Schönlein-Henoch, pelioza reumatismală, purpura anafilactică sau alergică)

Prin mecanismul de producere al leziunilor capilare, care în general reproduc fenomenul Arthus, precum şi prin existenţa unui Ag în general microbian în perioada imediat premergătoare bolii, P.S.H. este de obicei inclusă între angiopatiile alergice apropiate de P.A.N. Are o incidenţă mult mai mare decît acestea, întîlnindu-se mai ales la copii, cînd poate apărea în epidemiile de infecţii streptococice. Semnalată iniţial de Heberden, în 1810, este descrisă în forma actuală de Schönlein, în 1873, sub numele de pelioză reumatismală şi apoi de Henoch, în 1874, sub forma sa abdominală. Natura şi denumirea de boală anafilactică se datoreşte lui Glanzman, după ce Osler a unificat cele două forme — Schönlein şi Henoch — şi a reconsiderat-o ca boală anafilactică apropiată de boala serului.

Din punct de vedere *clinic* apare mai rar la adult şi foarte frecvent la copii (75%) sub vîrsta de 7 ani, după o perioadă de 7—10 zile de la o infecţie faringo-amigdaliană şi a căilor respiratorii superioare. Infecţiile sînt mai ales cu streptococ beta-hemolitic grup A, care se găseşte la 90% din cazuri (Taylor şi Kellum, 1971). Boala se recunoaşte după asocierea a 4 grupe de simptoame: 1) artralgii fluxionare; 2) purpură cutanată asociată sau nu cu hemoragii mucoase şi viscerale; 3) simptome abdominale cu colici, diaree, frecvent sanguinolente. După Allen (1960), la 131 de cazuri, se asociază şi fenomene urticariene cu erupţie şi edeme anafilactice la faţă sau membre. Se pot asocia, de asemenea, eriteme cu caracter multiform; 4) alte simptome sînt legate de asocierea manifestărilor viscerale prin leziuni capilare. Leziunile renale de glomerulonefrită în focar, cu hematurie şi

proteinurie moderată apar la 30—50—60% din cazuri. Fenomene de glomerulonefrită acută difuză apar la 10% din cazuri.

Manifestările abdominale, cu semne minore sau moderate, se întîlnesc la 50 % din cazuri şi rar pot să ajungă la leziuni grave de sindrom abdominal acut cu indicaţii de intervenţie chirurgicală. La copiii sub 4 ani se remarcă invaginaţii intestinale care dau o mortalitate foarte mare pînă la 40 %.

Purpura cutanată, care apare în marea majoritate a cazurilor, şi asocierea cu atingerea articulară la peste 50% din cazuri constituie elementele principale de diagnostic. Purpura este obişnuit generalizată, simetrică, constatînd din peteşii, de cele mai multe ori cu papule şi noduli care se pot ulcera ca în P.A.N.

Caracterele de boală imună constau în primul rînd din leziunea histologică pusă în evidenţă prin biopsia nodulilor hemoragici cutanaţi. Leziunea este tipică de capilarită tip Arthus prin depunerea de complexe imune la care se asociază procesul de endotelită, hemoragii extracapilare, infiltraţie acută cu neutrofile şi depunere de fibrină în zona de precipitare a complexelor. Leziunile în glomeruli sînt de asemenea tipice de glomerulită membranoasă prin complexe imune (Dixon, 1971; Michael, 1971). După Vernier (1958), există o secvenţă de la faza de edem pînă la obstruarea capilarului aproape completă. Deşi mai puţin studiate, aceleaşi leziuni se întîlnesc şi în capilarele tubului digestiv şi în ţesuturile moi perisinoviale în articulaţii. Depunerea de fibrină, cu coagulare intracapilară şi asocierea hemoragiei constituie o leziune apropiată de fenomenul Sanarelli Schwartzman. Miescher a reprodus experimental leziunile la animal prin imunizare cu vaccinuri bacteriene (1956—1957). Încercările de a produce leziunile la animale prin ser de bolnav sau de animal imunizat în supoziţia că există Ac circulanţi antiţesut capilar sau complexe imune toxice au dat rezultate incerte (Bernard, 1957; Berceanu şi colab., 1963, 1965).

Analiza imunochimică a leziunilor s-a cercetat mai puţin. În general se pun în evidenţă numai depunerile de fibrină (Miescher, 1965). Analiza imunochimică urmărită pe glomeruli în cîteva cazuri a arătat în plus depuneri de gammaglobuline şi de C′.

Investigaţiile serologice arată numai modificări nespecifice apropiate de cele din P.A.N. Cînd există infecţie streptococică pot să apară sporadic sau mai persistent Ac antistreptococici tip ASLO sau anti-D.N.A.-ază. Există creşteri variate de V.S.H., precum şi de alfa$_2$-globuline şi fibrinogen; mai rar se asociază creşteri de gammaglobulină.

Patogenia leziunilor se consideră de natură imună cu caracter anafilactic de tip Arthus. Ag imunizant este cel streptococic în cazul infecţiilor căilor superioare respiratorii, însă nu s-a pus niciodată în evidenţă prin analiza imunochimică a leziunilor. Se poate incrimina sensibilizarea prin alte Ag care etiologic determină sigur boala :Ag alimentare, drogurile, fungii etc. Purpura prin medicamente ca fenacetina, sulfamide, sulfatiazinele, antibioticele, chinina şi chinidina se întîlneşte obişnuit. Asocierea purpurei în endocardita lentă, în dermitele streptococice şi în reumatismul poliarticular acut sau cronic şi în glomerulonefrita acută demonstrează în plus natura etiopatogenică imună a leziunilor capilare. Nu se ştie dacă aceste Ag determină leziunile prin complexe imune, Ac producîndu-se faţă de drog ca haptene în complexe antigenice cu structuri organice sau

Scanned with OKEN Scanner

pot determina Ac specifici anticapilar prin fenomene de cross-reacţie. Ca *evoluţie*, în forma clasică de purpură anafilactică, are o durată scurtă, de cîteva săptămîni. Formele de determinări abdominale grave sau renale cu glomerulonefrită acută difuză au o evoluţie legată de progresia acestor complicaţii, putînd avea un prognostic grav mortal. Durata prelungită şi puseele repetate produc agravări progresive ale determinărilor viscerale. Cronicizarea este posibilă şi atunci boala capătă caractere sistemice particulare. Noi am semnalat posibilitatea acestei cronicizări prin infecţii repetate care dovedesc existenţa unui deficit imun de apărare cu scăderea puterii bactericide (Bruckner şi Berceanu, 1969; Berceanu şi colab., 1965, 1972, 1973). În aceste cazuri, infecţiile repetate faringo-amigdaliene, urinare sau chiar o hipersensibilizare tuberculinică determină o stare de hipersensibilizare generală, cu self-perpetuare, în care natura de boală prin complexe imune este şi mai evidentă. Se ajunge la stări de disglobulinemie, cu creşteri de gammaglobuline de tip policlonal sau chiar monoclonal, cu infiltraţii limfoplasmocitare în măduvă şi în ficat. De cele mai multe ori se produce o visceralizare renală, cu caractere de glomerulonefrită cronică care evoluează spre insuficienţă renală. Există un număr de observaţii, cu durată de peste 10 ani, în care au apărut pusee de boală anafilactică prin complexe imune, cu dureri articulare, exsudate în seroase, purpură cu elemente nodoziforme şi cu leziuni trombozante. Dereglările imune iau uneori caractere de crioglobulinemie, boala confundîndu-se cu purpurele disglobulinemice descrise ca idiopatice (Meltzer şi colab., 1966), sau cu *purpurele prin criopatii*. Analiza imunohistochimică pune în evidenţă complexe imune circulante în care se distinge participarea de IgG şi IgM. Disglobulinemia şi starea de hiperimunizare pot să determine apariţia de factori serici de tip F.R. sau F.L., precum şi de Ac incompleţi hemolitici cu testul Coombs pozitiv. S-au remarcat cazuri în care purpura vasculară s-a complicat după ani de zile cu scăderi de trombocite care au accentuat sindromul hemoragic. Caracterul clinic şi biologic al bolii se schimbă treptat în evoluţie spre o boală autoimună asemănătoare angeitelor necrotizante, bolii lupice sau chiar carditei reumatismale. La necropsie se constată mari infiltrate de plasmocite şi limfocite pironinofile, uneori greu de diferenţiat de plasmocitoza malignă, alături de leziunile renale de tip glomerulită membranoasă sau membrano-proliferativă. Participarea coagulării intravasculare pare să fie predominantă în cazurile de evoluţie îndelungată şi recidive acute. Agregatele imune şi leziunile endoteliale la anumiţi bolnavi produc o coagulare intravasculară, cu leziuni ireversibile unde s-a constatat un deficit de fibrinoliză.

Tratamentul. În formele clasice acute, tratamentul etiopatogenic al infecţiei microbiene şi cel adjuvant antiinflamator nespecific în general vindecă definitiv boala. Complicaţiile cardiace şi renale, precum şi manifestările articulare rebele, în formele grave şi prelungite necesită corticoterapie uneori de lungă durată. Este greu de apreciat însă dacă corticoterapia poate să oprească evoluţia spre cronicizare. Uneori, cortizonul determină recăderi infecţioase şi alegerea unei metode terapeutice este greu de făcut. În visceralizările renale se recomandă asocierea terapiei imunosupresive cu Imuran, Endoxan sau Leukeran, în doze mici prelungite. În cele mai multe cazuri evoluţia se influenţează şi în orice caz se

Scanned with OKEN Scanner

răresc sau dispar recidivele acute cutanate şi viscerale. Deficitul imun posibil în aceste cazuri impune o grijă deosebită în conducerea terapiei imunosupresive. De multe ori în cursul terapiei imunosupresive apar recidive infecţioase care declanşează pusee acute purpurice cu leziuni viscerale. Asocierea cu anticoagulante, în special a heparinei, nu pare să influenţeze evoluţia formelor visceralizate (Herdman şi colab., 1970). În cazurile urmărite de noi în care leziunea trombozantă sistemică capilară sau în vase mai mari, heparina în doze mari de 300—400 mg/24 h a influenţat evoluţia gravă a cîtorva pusee.

BIBLIOGRAFIE

Allen D. M., Diamond L. K., Howell D. A., Amer. J. Dis. Child., 1960, *99*, 147.

Altera K. P., Bonasch H., J. Amer. Vet. Med. Ass., 1966, *149*, 1 309.

Arbesman E. C., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown & Company Inc., Boston, 1965, p. 654.

Arbesman C. E,. Reisman R. E., în *Immunological Diseases*, sub red. Samter M., Little Brown & Company Inc., Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. I., p. 405.

Berceanu Şt., Săsărman M., Ionăşescu R., Simionovici M., Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol., 1958, *22*, 417.

Berceanu Şt., Iliescu M., Radu I., Hergot L., Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol., 1963, **22**, *2*, 417.

Berceanu Şt., Popescu I. Gr., Gociu M., *Volumul omagial al acad. N. Gh. Lupu*, Edit. Academiei, Bucureşti, 1965, p. 577.

Berceanu Şt., Gociu M., Grozea P., *Sistemul reticulo-endotelial*, Edit. medicală, Bucureşti, 1967.

Berceanu Şt., Gheorghiu M., Marinescu Sp., *Conferinţa naţională de hematologie*, octombrie 1972, Edit. medicală, Bucureşti, p. 53.

Berceanu Şt., Marinescu-Halunga Sp., Gheorghiu M., Gociu M., *Al 2-lea Congres al Diviziei Afro-Europene a Societăţii Internaţionale de Hematologie*, Praga, august 1973, vol. rezumate, p. 390.

Bernard J., Mathé G., Israel L., Presse méd., 1957, **65**, *33*, 751.

Bruckner I., Berceanu St., Med. Int., 1969, *21* 645.

Burch G. E., Sun S. C., Amer. Heart. J., 1968, *75*, 1.

Cameron J. S., Glascow E. F., Ogg C. S., White R. H., Brit Med. J., 1970, *4*, 7.

Cavelti P. S., Cavelti E. S., Arch. Path., 1945, *39*, 148.

Churg J., Strauss L., Amer. J. Path., 1951, *27*, 277.

Cluff L. E., Johnson J. E., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown & Company Inc., Boston, 1965, p. 418.

Cochrane C. G., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, partea a 2-a, 75.

Cochrane C. G., Weigle W. O., J. Exp. Med., 1958, *108*, 591.

Copeman W. S. C., Acta Med. Scand., 1956, **3**, *154*, 265.

Dixon F. J., Harvey Lect., 1963, *58*, 21.

Dixon F. J., în *Immunological Diseases* sub red. SAMTER M., Little Brown&Company Inc., Boston, 1965, p. 160.

Dixon F. J., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 162.

Dixon F. J., în *Immunological Diseases*, sub red. Samter M., Little Brown&Company Inc., Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. I, 253.

Dixon F. J., în *Immunological Diseases* sub red. Samter M., Little Brown&Company Inc., Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. II, p. 1 125

Dixon F. J., Oldstone M. B. A., Tonietti G., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, partea a 2-a, 65.

Felsh G., Deutsch. Med. Wschr., 1966, *91*, 2 197.

Fletcher G. F., Wenger N. K., Circulation, 1968, *37*, 1 032.

Ford R. G., Siekert R. G., Neurology, 1965, *15*, 114.

Gaydusek D. C., A. M. A. Arch. Int. Med., 1958, **101**, *1*, 9.

Germuth F. G. Jr,. Flangan C., Montenegro M. R., Bull. Hopkins Hosp., 1957, *101*, 149.

Gewurz H., Pickering R. J., Mergenhagen S. E., Good R. A., Int. Arch. Allergy, Appl. Immunol., 1968, *34*, 556.

Scanned with OKEN Scanner

GLYNN L. E., HOLBOROW E. J., J. Path. Bact., 1952, *64*, 775.
GLYNN L. E., HOLBOROW E. J., *Autoimmunity and diseases*, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1965.
GOTOFF S. P., FELLERS F. X., VAWTER G. F., JANEWAY C. A., ROSEN F. S., New Engl. J. Aust., 1965, *273*, 524.
GROSS L., Amer. J. Path., 1940, *16*, 375.
GYORKEY F., SINCOWICS J. G., Lancet, 1971, *1*, 131.
HALBERT S. P., BIRCHER R., DAHLE, E., J. Exp. Med., 1961, *113*, 759.
HALPERN N. B., KY N. T., AMACHE N., LAGRUE G., HAZARD J., Presse méd., 1967, *75*, 461.
HERDMAN R. C., PICKERING R. J., MICHAEL A. F., VERNIER R. L., FISH A. J., GEWURZ H., GOOD R. A., Medecine, 1970, *49*, 207.
HOLMES M. C., BURNET F. M., Heredity, 1964, *19*, 419.
ILIESCU M., RADU I., BERCEANU ST., Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol., 1963, **23**, 1, 57.
ISHIZAKA K., ISHIZAKA T., SUGAHARA T., J. Immunol., 1962, *88*, 690.
JENSEN M. M., Amer. J. Med., 1967, *43*, 897.
KAPLAN M. H., DALLENBACH F. D., J. Exp. Med., 1961, *113*, 1.
KAPLAN M. H., MEYSERIAN M., Lancet, 1962, *1*, 706.
KAPLAN M. H., BOLANDE R., RAKITA L., BLAIR J., New Engl. J. Med., 1964, *271*, 637.
KAPLAN M. H.,SVEC K. H., J. Exp. Med., 1964, *119*, 651.
KAPLAN E. L., ANTONY B. F., CHAPMAN S. S., WANNAMAKER L. W., Amer. J. Med., 1970, *48*, 9.
KAPLAN M. H., RAKITA L., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown&Company, Boston, ed. a 2-2, vol. II, 1971, p. 1 367.
KATZ O. H., UNANUE E. R., DIXON F. J., Amer. J. Pathol., 1968, *53*, 835.
KIRSHNAN C., KAPLAN M. H., J. Clin. Invest., 1967, *46*, 569.
KLEMPERER P., Amer. J. Path., 1950, *26*, 505.
LACHMAN P. J., MÜLLER EBERHARD H. J., KUNKEL H. G., PARONETTO F., J. Exp. Med., 1962, *115*, 63.
LANNIGAN R., ZAKI S. A., J. Path. Bact., 1967, *93*, 449.
MACKAY I. R., BURNET F. M., în *Autoimmune Diseases*. Charles Ch. Thomas Publ., Springfield, Illinois, 1963.
MARINESCU G., DRĂGĂNESCU ST., Ann. Méd., 1927, **22**, *2*, 155.
MASUGI M., Beitr. Path. Anat., 1933, **34**, *92*, 28.
MC. CARTY M., J. Exp. Med., 1955, *102*, 11,.
MC. CLUSKEY R. T., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, 242.
MELLORS R. C., ORTEGA L. G., Amer. J. Path., 1956, *32*, 455.
MELTZER M., FRANKLIN E. C., ELIAS K., MC. CLUSKEY R. T., COOPER N., Amer. J. Med., 1966, *40*, 837.
MESROBEANU I., BERCEANU ŞT., (sub red.), *Imunologie şi imunopathologie*, Edit. medicală, Bucureşti, 1968.
MICHAEL A. F. JR., DRUMMOND K. N., GOOD R. A., VERNIER R. L., J. Clin. Invest., 1966, *45*, 237.
MICHAEL A. F., WESTBERG N., FISH A. J., VERNIER R. L., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, 2, 208.
MIESCHER P., Schweiz. Med. Wschr., 1957, *87*, 1 339.
MIESCHER P., REYMOND A., RITTER O., Schweiz. Med. Wschr., 1956, *86*, 799.
MIESCHER P. A., PARONETTO F., KOFFLER D., în *Immunopathology*, IVth Int. Symp. sub red. GRABAR P., MIESCHER P. A., Schwabe&Co. Publ., Basel, Stuttgart, 1965, p. 446.
MILGROM F., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, partea I, 118.
MILGROM F., KLASSEN J., FUJI H., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, 2, 193.
MURPHY G. E., Medicine, 1960, *39*, 289.
NEUSTADT D. H., *Chemistry and therapy of collagen diseases*, Charles Ch. Thomas Publ., Springfield-Illinois, 1963, p. 108.
NOFF G. B., New Engl. J. Med., 1972, **287**, *14*, 716.
NOTKINS A. L., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, 2, 41.
OGG C. S., CAMERON J. S., WHITE R. H. R., Lancet, 1968, *2*, 78.
OLDSTONE M. B. A., DIXON F. J., J. Exp. Med., 1969, *129*, 483 ; 1971, **134**, *3*, 2, 32.
PARONETTO F., în *Textbook of immunopathology*, sub red. MIESCHER P., MÜLLER-EBERHARD H. J., New York, Grune and Stratton, 1969.
PICKERING R. J., GEWURZ H., GOOD R. A., J. Lab. Clin. Med., 1968, *72*, 436.
RAMMELKAMP C. H. Jr., Harvey Lect., 1955, *51*, 113.
RICH A., Harvey Lect., 1947, *42*, 106.
ROBINSON J., BRIGDEN W., Brit. Med. J., 1968, *2*, 272.

Scanned with OKEN Scanner

SHAPER A. G., KAPLAN M. H., FOSTER W. D., MC INTOSH D. M., WILKS N. E., Lancet, 1967, *1* 598.
SHULMAN L. E., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown&Company, Boston, 1971, ed a 2-a, vol. II, p. 1 029.
TARANTA A., Arthritis Rheum., 1961, *4*, 303.
TAYLOR R. J., KELLUM R. E., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown &Company, Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. II, p. 964.
TEILUM G., *Proceeding IIIrd International Conference on Sarcoidosis*, septembrie 1963, p. 14.
TEODORESCU P., BERCEANU ŞT., LILIS M., SÎRBULESCU R., Med. Int., 1957, *5*.
VALLOTA E. H., FORRISTAI J., SPITZER R. E., DAVIS N. C., WEST C. D., J. Clin. Invest., 1970, *131*, 1 306.
VERNIER R. L., în *Immunological Diseases*, sub red. SAMTER M., Little Brown&Company, Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. II, p. 1 134.
VERNIER R. L., FARQUHAR G. Ş., BRUNSON I. G., GOOD R. A., Amer. J. Dis. Child., 1958, *96*, 306.
VON PIRQUET C. E., Arch. Int. Med., 1911, *7*, 259.
WAGNER B. M., în *Autoimmunity*, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1965, p. 7.
WARD P. A., KIBUKA-MUSKOE J. W., Lancet, 1969, *2*, 283.
WEST C. D., MC. ADAMS A. J., MC CONVILLE J. M., DAVIS N. C., HOLLAND N. C., J. Pediat., 1965, *67*, 1 089.
WESTBERG G. N., NAFF G. B., BOYER J. T., MICHAEL A. F., J. Clin. Invest. 1971, *50*, 642.
WILLIAMS J. F., MORROW Jr. A. G., BRAUNWALD E., Circulation, 1965, *32*, 608.
YANG Y. H., Lab. Invest., 1965, *14*, 81.
ZABRISKIE J. B., FREIMER E. H., J. Exp. Med., 1966, *124*, 661.
ZEEK P. M., New Engl. J. Med., 1953, *248*, 764.

Scanned with OKEN Scanner

13. BOLI DE COLAGEN

A. LUPUSUL ERITEMATOS DIFUZ

S. PURICE

Boală de etiologie necunoscută, evoluînd clinic cu afectare pluriviscerală, asociată cu modificări importante şi caracteristice de imunitate. Boala este întîlnită cu o frecvenţă variind între 0,5 şi 4% din totalul internărilor în spital. Este mai des întîlnită în prezent şi aceasta ţine pe de o parte de metode mai precise de diagnostic, iar pe de altă parte, de o creştere reală a numărului de îmbolnăviri ; afectează mai mult femeile tinere, raportul faţă de bărbaţi fiind de 8/1.

Simptomatologia clinică. Manifestările bolii sînt foarte polimorfe. Febra, îmbrăcînd aspectele cele mai diverse, de la vagă stare subfebrilă pînă la hiperpirexie, este întotdeauna prezentă.

Sistemul osteo-musculo-articular este afectat în aproximativ 85% din cazuri, afectarea îmbrăcînd o gamă foarte largă de aspecte clinice, care pot coexista sau se succedă în timp : artralgii, artropatii fugace în special în articulaţiile mici ale mîinilor sau la articulaţiile intervertebrale cînd apar dureri toracice chinuitoare, miofibrozite, tenosinovite, uneori cu aspect de reumatism poliarticular acut sau de monoartrită. În 5% din cazuri, afectarea este de felul artritei reumatoide, de care nu poate fi diferenţiată clinic de obicei. În 2% din cazuri sînt prezente miopatii cu impotenţă funcţională, îmbrăcînd chiar aspectul clinic din miastenia gravă. Uneori se produc necroze aseptice osoase, în special în extremitatea proximală a femurului.

Afectarea renală, întîlnită în 70% din cazuri, poate fi discretă tot timpul bolii sau poate progresa spre o formă gravă ; uneori, forma gravă se poate instala de la început. Sedimentul urinar bogat şi proteinuria sînt semnele care indică prezenţa glomerulonefritei lupice. Sînt totuşi cazuri de afectare renală, uneori severă, fără semne urinare sau cu semne urinare intermitente ; de aici, utilitatea biopsiei renale în aprecierea stării exacte a rinichiului. În 20% din cazuri, aspectul clinic al glomerulonefritei este de sindrom nefrotic. Insuficienţa renală care poate apărea în cursul evoluţiei nefritei lupice îmbracă două aspecte : de cele mai multe ori este pasageră şi însoţeşte un puseu acut de boală, retrocedînd total sau parţial odată cu remisiunea ; poate fi însă şi progresivă, cînd are un prognostic grav. Hipertensiunea arterială însoţeşte foarte rar nefrita lupică. În rinichiul afectat de boală se pot grefa uşor germeni, ducînd la infecţii urinare ce agravează prognosticul.

Leziunile cardiovasculare trebuie văzute sub două aspecte : afectarea cardiacă (prezentă în 50% din cazurile de lupus) şi leziunile vascu-

Scanned with OKEN Scanner

lare ; arterele mici sînt modificate ca structură în sensul îngroşării şi metacromaziei peretelui arterial cu inflamaţie minimă. Aceste leziuni sînt inegal diseminate. În splină, afectarea arterială îmbracă aspecte particulare, în sensul îngroşării peretelui în lame concentrice, fără reacţie inflamatorie importantă (aspect în foi de ceapă). Afectarea vasculară, diseminată în întreaga economie a organismului, este răspunzătoare de multe din aspectele clinice aşa de diverse şi greu de diagnosticat. Leziunile cardiace sînt cantonate în special în miocard ; suferinţa muşchiului cardiac ţine în parte de afectarea coronarelor. Probabil însă că şi alţi factori, încă nelămuriţi, au rol patogenic. Miocardita se caracterizează clinic prin tahicardie, care merge paralel cu gravitatea bolii persistînd şi după scăderea febrei sub tratament, şi o serie de semne care apar mai rar, ca : tulburări de conducere (blocuri a-v sau intraventriculare), modificări de fază terminală pe electrocardiogramă şi rareori aspecte de infarct de miocard. Insuficienţa cardiacă apare rar ca o complicaţie a afectării cardiace (8% din bolnavi). Pericardita este prezentă la o 1/5 din cazurile de lupus cu afectare cardiacă, iar endocardita la 5% sub forma bolii mitrale şi mai rar a insuficienţei aortice. Aspectul anatomopatologic este greu de diferenţiat de cel produs de reumatismul poliarticular acut. Bolnavii cu leziuni valvulare au semne de pancardită, lupusul evoluează grav, decedînd în insuficienţă cardiacă.

Leziunile pulmonare sînt prezente la 35% din bolnavi. Ele îmbracă forme diferite, uneori combinate. Cel mai des, aspectul este al unui bolnav dispneic cu capacitate vitală redusă, avînd radiologic atelectazii lamelare la bazele pulmonului, cu diafragme înalte, cu mişcări reduse şi cu semne de pleurită. Pleurezia, de multe ori recurentă, însoţeşte uneori lupusul, ca şi infiltratele pulmonare greu de diferenţiat de cele tuberculoase după aspectul radiologic.

Sistemul nervos este afectat în 20% din cazuri. Substratul afectării nu este complet clarificat. De multe ori sînt prezente leziuni vasculare difuze şi de vîrste diverse, producînd tromboze în arteriolele de calibru 1—1,5 mm şi microinfarcte. Afectarea nervoasă este un semn de gravitate în evoluţia bolii şi de prognostic sever.

Leziunile tegumentare sînt întîlnite la 40% din bolnavi ; ele au formele cele mai diverse şi sînt de multe ori greu de încadrat nosologic. Numai în 16% din cazurile de lupus erupţia îmbracă aspectul denumit clasic de erupţie eritemato-maculo-papuloasă în fluture. În rest, se întîlnesc noduli inflamatori subcutanaţi foarte dureroşi care de obicei au o existenţă de 1—2 zile şi apar în pusee, edeme parcelare, bule, uneori hemoragice, necroze şi ulceraţii produse probabil de tromboze arteriolare, urticarie uneori indusă de antigene (droguri) externe, pigmentaţii ale pielii, alopecie, în special în fazele evolutive ale bolii, eritem nodos, purpură vasculară sau trombopenică, leziuni ulcerative de mucoase, lupus discoid al feţei etc. Diversitatea de leziuni cutanate pune uneori probleme dificile de diagnostic diferenţial cu alte boli ca : eritema multiforme, dermatomiozite, sclerodermie, eczemă, psoriazis, sarcoid, seboree, lichen plat, rozaceea etc.

La 15% din bolnavi se întîlnesc adenopatii generalizate sau localizate, asociate sau nu cu splenomegalie. Aceste semne creează confuzie cu prezenţa limfomului malign sau a tuberculozei.

Scanned with OKEN Scanner

Fundul de ochi este caracterizat printr-o sărăcire în vase mici.

În tractul digestiv uneori se produc tromboze arteriolare, cu infarcte localizate în intestin sau mai rar în stomac şi esofag şi care pot duce la ulceraţii.

Afectarea hepatică este rară şi de mică importanţă.

Nici unul din semnele clinice enumerate nu este necesar nici caracteristic pentru diagnosticul bolii; orice combinaţie de semne este posibilă. Sînt însă cîteva aspecte de bază care trebuie subliniate şi care ajută în stabilirea diagnosticului clinic.

Un element care ajută la stabilirea diagnosticului este *evoluţia în timp* a bolii. În peste 90% din cazuri, aceasta evoluează cronic ani de zile cu perioade de acutizare, care durează variabil de la cîteva săptămîni la luni de zile şi au de obicei manifestări clinice deosebite de la puseu la puseu. Remisiunile sînt complete sau parţiale. În cazuri rare boala evoluează acut continuu, îmbrăcînd uneori un aspect fulminant sau poate evolua torpid, subclinic, sub aspectul unei stări subfebrile cu scădere în greutate, anorexie, slăbiciune.

O greutate în stabilirea diagnosticului o reprezintă formele care evoluează cu afectarea unui singur organ sau sistem.

Este greu de apreciat evoluţia în timp a bolii; sînt cazuri care în decurs de cîteva luni ajung la deces şi altele care după o evoluţie de 20—30 de ani nu au dus la apariţia de leziuni grave organice. Prognosticul bolii este sever în cazurile cu afectare renală gravă, cu afectarea sistemului nervos central sau cardiacă sau cu evoluţie continuă, fără remisiuni, necesitînd doze mari de hormoni pentru a obţine o ameliorare care nu este decît precară. Istoria naturală a bolii este incomplet cunoscută. Persistă incertitudine în a considera un caz vindecat deoarece remisiunile complete pot dura timp foarte îndelungat. Incidenţa deceselor în grupul de bolnavi cu forme grave, care necesită 1—2 internări anuale este mare, aproape 40% după o evoluţie de 8 ani a bolii. Cazurile urmărite în policlinică, de obicei foarte uşoare, au un prognostic mult mai favorabil. În aproximativ 2/3 din cazuri, decesul survine din cauza evoluţiei agravante a bolii cu infecţii grefate preterminal pe un organism foarte tarat. În 1/3 din cazuri, decesul este determinat de infecţii, produse chiar de germeni slabi patogeni.

Substratul anatomopatologic al bolii a fost amplu cercetat (Klemperer, 1941); s-a ajuns la definirea unor leziuni considerate la un moment dat fundamentale, diseminate în diverse organe. Ele au aspectul de necroză fibrinoidă şi sînt localizate în ţesutul mezenchimal (conectiv, de legătură sau colagen) sau sînt cantonate în peretele vaselor. Acest ţesut cu vasele care îl străbat este prezent în toată economia organismului, formînd ţesutul de legătură care vehiculează şi vasele nutritive în diverse organe şi sisteme. *Mecanismul de producere a leziunii* este controversat încă. El poate fi considerat drept consecinţa unui conflict imunologic produs de complexe imune fixate în ţesuturi şi care induc secundar inflamaţia ce îmbracă aspectul unui fenomen Arthus. În acest proces complex, activarea complementului induce fenomene de coagulare intravasculară şi de fibrinoliză, cu apariţia în zona inflamaţiei de fibrină, fibrinogen şi produşi de scindare a fibrinogenului, elemente prezente în zona de degenerescenţă fibrinoidă. În zonele de necroză fibrinoidă, ca şi în afara lor a fost descris

Scanned with OKEN Scanner

un alt aspect anatomopatologic : prezenţă de corpi hematoxilinici, consideraţi şi în prezent drept patognomonici pentru lupus. Aceşti corpi de aspect neregulat şi de mărimi variind de la cîţiva la cîteva sute de microni sînt formaţi din material derivat din nucleul celular, aşa cum rezultă din coloraţia Feulgen şi absorbţia în lumina ultravioletă. Ei sînt consideraţi corespondentul *in vivo* al celulelor L.E. obţinute *in vitro*. Apariţia acestor celule în lupus este condiţionată de prezenţa în serul bolnavilor a factorilor antinucleari (FAN).

Aspecte caracteristice în serul bolnavilor cu lupus. Hargraves observă că dacă sîngele sau aspiratul medular prelevat de la un bolnav cu lupus este lăsat un timp la incubat şi apoi se întind din el frotiuri, unele leucocite conţin un material amorf fagocitat, lipsit de orice fel de structură, colorat în roşu heliotrop cu Giemsa. Aspectul este comparabil cu al unei petale de trandafir roşu. Această celulă a fost numită *celulă de lupus eritematos* sau *celulă L.E.* Materialul fagocitat este nucleul modificat al unui leucocit alterat. Haserik (1949) observă că celula L.E. poate fi produsă şi cu leucocite obţinute de la un individ normal, dacă acestea sînt puse *in vitro* în contact cu ser lupic. Mai tîrziu, Mischer observă că serul unui bolnav cu lupus pus în contact în prealabil cu nuclei celulari îşi pierde proprietatea de a mai produce celule L.E. dacă vine în contact *in vitro* cu leucocite. Nucleii absorb factorul seric, numit *factor lupic* sau *factor L.E.*, răspunzător de producerea de celule L.E. Formarea acestor celule de către leucocite sub acţiunea serului lupic poartă numele de *fenomen L.E.* Acest fenomen apare numai *in vitro* şi se produce în două etape : 1) *factorul lupic* vine în contact cu leucocite alterate care se găsesc în proporţii variabile în masa de leucocite scoase *in vitro* şi asupra cărora acţionează serul lupic ; pătrunde în nucleu şi îl modifică structural ; în urma acestei acţiuni nucleul îşi pierde structura, devine omogen şi îşi schimbă proprietăţile tinctoriale (metacromazia nucleului) ; 2) nucleul astfel modificat suferă acţiunea unor componente ale complementului care se comportă ca opsonine (cap. 6). Leucocitele viabile, din vecinătate, fagocitează cu uşurinţă nucleul astfel modificat şi formează celula L.E.

Factorul lupic este o IgG (cap. 4). El este lipsit de specificitate de aspecte sau de organ, în sensul că poate acţiona asupra nucleilor de orice fel de celulu. În nucleu este fixat de grupări de aminoacizi din complexul DNA-histonă. Dacă acest complex este scindat (cu acid clorhidric sau DN-ază) dispare şi proprietatea lui de a fixa factorul lupic. Fixarea este maximă pe nucleohistona care a fost extrasă din nucleu la o forţă ionică scăzută.

Fenomenul L.E. este prezent la aproximativ 85% din cazurile de lupus. El poate fi absent în unele pusee evolutive ale bolii sau în perioadele de remisiune şi poate să apară în altele. Tehnicile de evidenţiere folosesc de obicei propriile leucocite ale bolnavului. Sînt utilizate două metode, a cheagului şi cu heparină. În cazul cînd fenomenul nu poate fi produs cu o tehnică, el poate apare cu cealaltă sau uneori după adaos de ser proaspăt (conţine complement).

Factorii antinucleari (FAN). Factorul L.E., prin acţiunea lui asupra nucleohistonei nucleare, este un factor antinuclear. În afara lui au fost identificate şi alte substanţe cu o afinitate similară pentru nuclei.

Scanned with OKEN Scanner

Coon a introdus o metodă foarte sensibilă pentru a-i identifica : secţiuni de ţesuturi sau frotiuri cu celule izolate sînt tratate cu ser de lupic, factorii antinucleari se pot fixa pe nuclei şi sînt evidenţiaţi prin tratare secundară cu un ser fluorescent antiglobulinic. Metoda de identificare este indirectă ; potrivit acestei metode se defineşte ca FAN orice gammaglobulină care reacţionează cu nucleii în condiţii de imunofluorescenţă. Aceşti factori nu au specificitate de specie sau de organ şi uneori dau reacţie numai cu granulocitele. În lupus, fluorescenţa apărută ca urmare a reacţiei Coon este de obicei de tip omogen sau mai rar de tip perinuclear ; aceasta din urmă are specificitate mai mare pentru lupus. Prezenţa imunofluorescenţei omogene face greu de diagnosticat prezenţa concomitentă a altor forme de fluorescenţă. Sînt necesare tehnici asociate pentru identificarea diverşilor factori antinucleari (hemaglutinare, precipitare) (Purice şi colab., 1960). Identificarea factorilor antinucleari prin imunofluorescenţă este mai sensibilă decît producerea fenomenului L.E., aceasta datorită faptului că tehnica este mai sensibilă şi evidenţiază şi alţi factori în afara celui L.E. Ea este pozitivă în toate cazurile de lupus eritematos difuz. Factorii antinucleari nu se pot fixa decît pe nuclei izolaţi sau pe nucleul celulelor neviabile.

În 1937, Gajdusek (citat de Dubois), cercetînd 60 de bolnavi cu hepatită virală, observă că uneori serul lor are proprietatea de a fixa complementul atunci cînd sînt puse în contact cu un extract salin de omogenizat de diverse organe. Rezultate pozitive (în 40—70% din cazuri) s-au obţinut în lupusul eritematos difuz şi hepatita lupoidă. Testul a fost numit de fixare autoimună de complement (AICF) şi este datorit prezenţei în serul bolnavilor a unei Ig (G sau M) cu afinitate pentru citoplasma diverselor tipuri de celule.

Ascherson, folosind tehnica hemaglutinării pasive în prezenţă de extracte fenolice din ficatul şi colonul normal, obţine aglutinarea hematiilor cu ser de bolnavi de colită ulceroasă, hepatită cronică, artrită reumatoidă sau lupus. Autoanticorpii care produceau această aglutinare sînt de alt tip decît cei ce produc AICF sau FAN. Folosind metoda de difuziune în agar s-au identificat în serul lupicilor precipitine pentru diverse extracte tisulare citoplasmatice (Deicher, 1959) (S_JD, S_JT, Lup) sau DNA.

O proporţie mare din cazurile de lupus au reacţii Bordet Wassermann fals pozitive. În serul acestor bolnavi există un autoanticorp anticitoplasmatici care reacţionează cu o grupare antigenică fosfolipidică din protoplasmă. Or, această fosfolipidă este constituent şi al antigenului cardiolipinic din RBW. În acest fel se explică rezultatele fals pozitive. După Harvey, 8% din femeile cu RBW fals pozitive fac în decursul anilor lupus.

Se întîlnesc uneori cazuri de lupus care au în ser autoanticorpi cu efect anticoagulant (antitromboplastină, antitrombină).

În 5—10% din cazuri în serul bolnavilor au fost identificaţi autoanticorpi incompleţi la cald care se fixează pe membrana hematiei, activează complementul (cap. 6) şi produc anemii hemolitice autoimune, care preced uneori cu ani de zile alte semne de lupus. Testul de consum al antiglobulinei este uneori pozitiv cu leucocitele sau trombocitele de la bolnavii cu lupus. El este datorit, după Dausset, prezenţei pe aceste celule a unor autoanticorpi de tip IgG antileucocit sau trombocit, care pot fi identifi-

Scanned with OKEN Scanner

cați indirect cu ajutorul serului antiglobulinic și care se fixează specific pe celule, scăzîndu-le viabilitatea. Așa se explică leucopenia marcată, aproape constant întîlnită în boală lupică, sau trombopenia, mai rar întîlnită (2% din cazuri), care se exteriorizează clinic atunci cînd este foarte accentuată prin purpură, tablou clinic care poate precede uneori cu mult timp alte semne de lupus.

Complementul seric este scăzut în lupus în special în fazele acute ale bolii, fenomen care are importanță în diagnostic (cap. 6). Factorul reumatoid este prezent în titruri mici la 15% din lupici. Este a doua boală ca frecvență după artrita reumatoidă în care este prezent acest factor.

Injecția intradermică a unei suspensii de leucocite proprii provoacă la un bolnav cu lupus apariția, în 18—24 de ore, a unei reacții cu aspect tuberculinic. Prezența și intensitatea reacției nu este legată de titrul factorilor antinucleari sau citoplasmatici. Este asemănătoare celei care se produce la un subiect care a făcut o rejecție de grefă și i se injectează apoi intradermic o suspensie de leucocite de la donorul de grefă. O reacție asemănătoare apare și în tiroidita alergică.

Din anomaliile imunologice amintite *prezența factorilor antinucleari* este cea mai importantă ca element de diagnostic al bolii. La un număr infim de normali (sub 1%) se poate obține o slabă fluorescență nucleară. Sînt și o serie de maladii în care factorii antinucleari sînt prezenți în titruri mici și dau de obicei o fluorescență de tip pătat : artrita reumatoidă (în 20% din cazuri), lupusul discoid (în 25% din cazuri ; aproximativ 5% din aceste cazuri trec după un interval de timp în lupus eritematos difuz), miastenia gravă (în 5—10% din cazuri), hepatita lupoidă, ciroza biliară primitivă, sindromul Sjögren. Factorii antinucleari pot apărea și consecutiv administrării unor medicamente ca : hidralazina, penicilina, izomiazida, sulfamidele, pronestil, dilabtin, tridion, metale grele etc. Uneori, în aceste cazuri, prezența factorilor antinucleari este însoțită de o simptomatologie clinică de lupus. Prezența celulelor L.E. confirmă diagnosticul ; lipsa lor nu exclude complet această boală însă o fac puțin probabilă.

Alte modificări întîlnite în lupus interesează VSH, care este întotdeauna maximală sau foarte mult crescută în perioadele acute de boală. În remisiuni se poate normaliza sau rămîne crescută la valori medii. În 2/3 din cazuri există disproteinemie, în sensul creșterii cantității de gammaglobuline, creștere care are aspect policlonal și duce la pozitivitatea testelor de disproteinemie. Gammaglobulinele au proprietatea de a aglutina spontan în anume condiții de experiență hematiile de grup O. Serul unor bolnavi are proprietatea de a forma crioprecipitat, care nu a putut fi corelat cu anume aspecte de boală. Anemia, prezentă în 80% din cazuri, este rareori de tip autoimun hemolitic. De obicei este de tip normocrom hiporegenerativ și nu are un mecanism de producere bine precizat pînă în prezent.

Rolul factorilor imunologici în patogenia bolii. Anticorpii antinucleari, ca și cei anticitoplasmatici nu pot agresiona celula vie. Ei nu pot pătrunde prin membrana acesteia. Pînă în prezent nu au fost semnalați în această boală anticorpi antimembrană, decît în cazuri rare de lupus și numai în ceea ce privește hematiile, leucocitele și trombocitele, cînd

Scanned with OKEN Scanner

prezența lor este legată de apariția de tulburări mari în care anticorpii amintiți joacă rolul principal.

Uneori, imunofluorescența evidențiază în glomerulonefrita lupică depuneri de IgG și complement pe fața internă a membranei bazale, avînd aspect liniar continuu. Este cunoscut că astfel de aspecte sînt produse de anticorpi antimembrană bazală fixatori de complement; acest mecanism este implicat în producerea unor nefrite. Este posibil ca în nefrita lupică să intervină uneori un mecanism similar. În aceste cazuri, lupusul se caracterizează printr-o aberație imunologică în plus: prezența de anticorpi antimembrană bazală alături de factorii antinucleari și anticitoplasmatici.

În capitolul 6 este arătată importanța complexelor în a induce inflamația locală. Formele severe de evoluție a bolii sînt asociate cu scăderea mare a complementului seric și prezența de anticorpi anti-DNA sau antinucleoproteină, în titru mare, în sînge (Mass, 1973; Purice, 1969). Depunerile de complexe imune în rinichi se fac sub formă de mase amorfe neregulate dispuse pe fața externă și uneori și internă a membranei bazale. Studii de imunofluorescență au arătat că ele au compoziții diverse: DNA, anticorpi-anti-DNA, IgG, componente de complement (vezi cap. Complement). Formele de lupus care evoluează cu prezență în cantitate mare de factori antinucleari de tip imunofluorescență pătată (anti-RNA) au semne de miozită, adenopatii, scleredem, însă nu au afectare renală. Formele de lupus la care se găsesc în ser factori antinucleari de tip omogen și pătat au un prognostic favorabil, deși evoluează cu nefrită; aceasta însă răspunde la tratament favorabil. Numărul de celule L.E. nu a putut fi corelat cu anume aspecte de evoluție a bolii.

Asupra cauzelor care produc aceste modificări imunologice nu se pot face decît ipoteze. Producerea de anticorpi poate fi însă văzută ca rezultanta unei anomalii a sistemului limfoplasmocitar în sinteza de imunoglobuline. Celulele producătoare de anticorpi formează la întîmplare, fără a mai fi supuse homeostaziei organismului, combinații de proteine cu diverși determinanți anticelulari.

Nu au putut fi clar definite pînă în prezent anomalii ale sistemului limfatic în lupus. Mc Kay găsește în unele cazuri de lupus aspecte anatomopatologice de displazie timică: timus mic, depopulat în limfocite, cu prezență de celule epiteliale în exces.

Prezența anticorpilor serici atît de diverși ca proprietăți, scăderea complementului seric și aspectele particulare ale sistemului limfoplasmocitar sînt indicatori care semnalează stricarea toleranței imune a organismului bolnavilor cu lupus eritematos difuz.

Etiologia bolii lupice este de domeniul speculațiilor teoretice bazate pe puține fapte semnificative. Aglomerări de cazuri de lupus sau de alte colagenoze se întîlnesc uneori în unele familii. Cauza poate să țină la fel de bine de factori externi care pot acționa uniform asupra membrilor aceleiași familii sau pot fi de ordin general. Marshall găsește o incidență de trei ori mai mare de bolnavi la gemenii monozigoți, decît la cei bizigoți. În unele statistici s-a urmărit prezența lupusului sau a altor colagenoze, a factorilor antinucleari, a factorului reumatoid sau a gammaglobulinelor serice la rudele celor cu lupus.

Scanned with OKEN Scanner

Rolul agenţilor infecţioşi a fost incriminat de foarte multă vreme în etiologia bolii. Asocierea cu tuberculoza este frecventă. Teoria focarelor de infecţie îşi are încă susţinători în explicarea etiologiei bolii. Teoria virală a căpătat în ultimul timp oarecare consistenţă. S-au descris la microscopul electronic formaţiuni tubulare intracitoplasmatice sugestive de prezenţa unor virusuri din grupa mixovirusurilor. În serul bolnavilor în perioadele de acutizare a bolii apar cu titru crescînd anticorpi antivirali. Unele specii de animale (şoarecii NZB, hibrizii NZB/NZW şi hamsterii) fac boli asemănătoare clinic şi humoral lupusului, care pot fi transmise prin diverse filtrate acelulare; în cazul şoarecilor NZB a fost identificat un virus, care nu produce boala decît dacă se grefează pe anume organisme receptive în care structura imunologică joacă probabil un rol important.

Diagnosticul diferenţial. Boala poate fi confundată cu un număr mare de afecţiuni, mai ales atunci cînd nu are o evoluţie tipică. Cu reumatismul poliarticular acut, diagnosticul diferenţial uneori îl fac numai semnele de laborator, întrucît cele clinice sînt identice. Cu artrita reumatoidă deşi uneori în puseele acute de lupus aspectul clinic articular este caracteristic artritei reumatoide (în remisiuni articulaţiile revin la aspectul lor normal şi nu rămîn semne de anchiloză). Semnele umorale sînt un criteriu important de diagnostic diferenţial. Sindromul Felty evoluează cu artrită adeno- şi splenomegalie şi leucopenie şi trebuie diferenţiat de lupus; în acest caz, criteriile de ordin imunologic sînt decisive.

Sindromul Sjögren pune uneori probleme dificile de diagnostic diferenţial. Acest sindrom are două variante clinice: una caracterizată prin aşa-zisul sindrom sicca (keratoconjunctivită uscată, xerostomie, cu sau fără mărirea de volum a glandelor salivare) şi a doua formă în care semnele descrise sînt asociate artritei reumatoide, lupusului eritematos difuz, sclerodermiei, polimiozitei, poliarteritei nodoase. Semnele clinice ţin de lipsa sau insuficienţa de secreţie lacrimală, salivară şi a glandelor care umezesc nasul, faringele, laringele, traheea, bronşiile şi vaginul. Bolnavii fac în special infecţii respiratorii frecvente, datorită drenării defectuoase a bronşiilor şi atelectaziei. Glandele salivare sufăr o infiltraţie cu limfocite care înlocuiesc treptat acinii, păstrînd însă arhitectura lobulară a glandei. Bolnavii au creşteri de tip policlonal de gammaglobuline; uneori, creşterile sînt foarte mari şi asociate cu purpură vasculară (purpură prin crioglobulinemie mixtă, IgM—IgG). Din punct de vedere imunologic, sindromul se caracterizează prin prezenţa factorului reumatoid la toţi bolnavii; prezenţa factorilor antinucleari la 70% din cazuri, care dau fluorescenţă în special de tip pătat, şi niciodată de tip perinuclear; prezenţa de celule L.E., care de multe ori sînt atipice (nucleul fagocitat de leucocit nu şi-a pierdut total structura şi proprietăţile lui tinctoriale) la 20% din cazuri; 44% din cazuri au anticorpi anticitoplasmatici care reacţionează cu diverse extracte tisulare, dintre care şi extracte din celulele care formează canaliculele salivare; în 40% din cazuri sînt prezenţi anticorpi antitireoglobulină, asociaţi de multe ori cu prezenţa tiroiditei de tip Hashimoto. Majoritatea bolnavilor nu răspund la testele de hipersensibilitate întîrziată, iar transformarea blastică a limfocitelor *in vitro* este deficitară. În unele cazuri s-au semnalat tulburări renale de tip tubular (concentraţie defectuoasă a urinii şi acidoză tubulară). Modificările

imunologice amintite sînt cele mai importante din tot grupul de colagenoze. Ele se datoresc stării de hiperexcitabilitate cronică imunologică a ţesutului limfatic, stare care caracterizează sindromul. Uneori, sindromul sicca acompaniază boli ca: leucemie, macroglobulinemie, sarcoidoză, limfom.

Afectarea cutanată în lupus este aşa de diversă încît de multe ori diagnosticul diferenţial cu unele afecţiuni strict dermatologice este foarte dificil. Formele grave de eritem multiform, denumite şi sindrom Stevens-Johnson, în care erupţia are un caracter bulos, veziculos, uneori hemoragic, cu afectarea şi a mucoaselor şi care evoluează cu febră mare, leucocitoză şi nefropatie au un aspect caracteristic şi sînt mai greu de confundat cu lupusul eritematos difuz. Substratul bolii este format de mecanisme imunoalergice, iar ca etiologie sînt cunoscute cauze diverse: virală, sensibilizare la unele medicamente. Dermatomiozita şi sclerodermia pot fi relativ uşor diagnosticate după aspectul lor clinic şi lipsa modificărilor umorale caracteristice lupusului. Poliarterita prin prezenţa manifestărilor clinice polimorfe şi a stării febrile creează dificultăţi de diagnostic diferenţial. Forma de hepatită cronică agresivă denumită şi lupoidă creează greutăţi de diagnostic. Lupusul uneori poate fi confundat cu reacţiile alergice medicamentoase. Uneori, adenopatia şi splenomegalia sînt interpretate ca fiind expresia clinică a limfomului. Lupusul eritematos difuz mai poate fi confundat cu febra mediteraneeană.

Tratamentul lupusului eritematos difuz. Deşi etiologia bolii este necunoscută, iar în patogenia ei persistă multe goluri, în arsenalul terapeutic al lupusului cortizonul şi derivaţii săi au un efect spectacular. Pentru a obţine acest rezultat este nevoie de o doză optimă care variază destul de mult de la individ la individ; în medie este de 40—60 mg prednison/zi pentru adult (0,75—1 mg/kgcorp/zi). Ca eficacitate, triamcinolonul (doza optimă medie variază între 16 şi 32 mg/zi) este superior prednisonului; superprednolul nu este indicat, fiind mult inferior ca eficacitate. În momentul cînd afectarea viscerală este în regres evident, se scade treptat doza iniţială, în medie cu 2,5—5 mg/săptămînă.

Prognosticul cazurilor este cu atît mai sever cu cît este nevoie de o doză mai mare de cortizon pentru a amorsa şi menţine o ameliorare în evoluţia bolii. Orice recădere este tratată după aceeaşi schemă.

În formele rebele la tratament şi în special în cele cu afectare renală, la hormoni se asociază o terapie cu substanţe citotoxice care au ca efect general o deprimare a fenomenelor de imunitate (producere de anticorpi), însă au şi un efect antiinflamator ca alchilantele (ciclofosfamida, melphalanul, clorambucilul), care împiedică transformarea limfocitului în celulă mare pironinofilă. Alte substanţe sînt antimetaboliţii (antifolicele ca metotrexatul şi antipurinicile ca azathioprina şi 6-mercaptopurina). Tratamentul trebuie continuat luni de zile, uneori pînă la 2 ani.

Cloroquina în doze de 300—600 mg/zi este uneori un adjuvant terapeutic, permiţînd scăderea dozelor de hormoni; este indicată în special în formele cu afectare cutanată.

Bolnavele, în marea lor majoritate femei tinere, trebuie să cunoască dacă vor să aibă copii că uneori apar aglomerări familiale de cazuri de lupus, că sarcina poate induce o agravare a bolii şi că s-au citat cazuri la care tratamentul imunorepresiv a avut efecte teratogene asupra urmaşilor.

Scanned with OKEN Scanner

B. POLIARTRITA REUMATOIDĂ

VICTOR CIOBANU şi ION URSEANU

Afecţiune inflamatorie cronică a ţesutului conjunctiv, interesînd sinoviala, ţesuturile periarticulare şi unele organe, poliartrita reumatoidă (P.R.) continuă să aibă o etiologie încă necunoscută. S-au făcut în schimb progrese însemnate în direcţia lămuririi mecanismelor patogenice prin care inflamaţia reumatoidă se autoperpetuează, evidenţiindu-se ponderea deosebită a proceselor imunopatologice.

Literatura de specialitate dezbate azi mai ales următoarele ipoteze etiopatogenetice: *a*) existenţa unei predispoziţii genetice; *b*) poliartrita reumatoidă ar fi declanşată şi întreţinută de un fenomen autoimun; *c*) mecanismul imunologic ar fi declanşat de un stimul iniţial exogen, eventual microorganism; *d*) un agent infecţios de tip virus defectiv „lent" ar fi responsabil de toate mecanismele bolii; *e*) tulburarea iniţială ar fi primară şi ar aparţine celulelor ţesutului conjunctiv, în general, şi celulelor imunosecretorii, în special. Nici una dintre aceste ipoteze nu răspunde integral explicaţiei tuturor simptomelor bolii şi, mai ales, evoluţiei severe a acesteia.

a) Studii epidemiologice ample au demonstrat că P.R. este de 3—4 ori mai frecventă printre rudele pacienţilor suferinzi de această afecţiune decît la un lot general martor (Lawrence). De asemenea, purtătorii sănătoşi de factor reumatoid (F.R.) dezvoltă de trei ori mai frecvent P.R. decît cei la care nu s-a evidenţiat F.R. în ser.

Există o agregare familială dovedită de Coste între poliartrita reumatoidă şi seropozitivitate, precum şi o agregare, tot familială, cu celelalte boli de colagen sau boli autoimune (Stecher). Burch consideră că pentru producerea P.R. ar fi necesară o homozigoţie la un locus genic autosomal şi o mutaţie somatică într-o genă structurală, responsabilă de controlul sintezei Ig(G) (cap. 4). Dar numai jumătate din cei consideraţi cu risc genetic fac boala. Acest fapt se datoreşte adăugării unor condiţii favorizante ca: sexul feminin, un anume teren neuropsihic (vegetativ), factori endocrini care determină o inadaptabilitate la „stress", tulburări ale metabolismului proteic reflectate în creşterea eliminărilor urinare triptofan (care ar putea fi însă o expresie şi nu o cauză a bolii), traumatisme articulare repetate, infecţii cronice şi de focar, interpretabile ca stimul continuu.

b) Numeroşi autori susţin că P.R. este o boală autoimună. Este dovedit prin metode imunologice că F.R., prezenţi la 80% din pacienţii cu P.R., reprezintă anticorpi cu acţiune anti-IgG. F.R. aparţin IgM (detectabili prin reacţia Waaler—Rose sau latex), IgG şi IgA (detectabili prin metoda imunocitoaderenţei şi evidenţiabili prin imunofluorescenţă. Unii F.R. sînt eterospecifici (reacţionînd cu IgG de iepure), alţii omospecifici (cu IgG umane), alţii autospecifici (cuplaţi cu IgG la nivelul determinanţilor Gm ale acestora, în complexe solubile circulante de tip 1 mol F.R. + 6—8 mol IgG).

Scanned with OKEN Scanner

Rezultă deci că F.R. sînt o vastă familie de autoanticorpi al căror stimul antigenic este reprezentat de IgG proprii mai mult sau mai puţin denaturate. Este dovedit că în P.R. nu există o hipersecreţie de anticorpi la antigeni exogeni, în general infecţioşi (Müller).

Se pare că iniţial apar F.R. din grupa IgG (decelabili prin testul rozetei reumatoide, pozitiv şi în fazele incipiente ale bolii şi în 70% din formele seronegative), pentru ca tardiv să apară cei din grupa IgM, cu patogenitate crescută. Au fost descoperiţi şi numeroşi alţi autoanticorpi la pacienţii cu P.R., toţi avînd ca stimul antigenic structuri proprii denaturate (factori lupici, anticorpi antinucleari, anticorpi antitireoglobulină, anti-antigene din celulele parietale gastrice), unii autori găsindu-i mai frecvent la femei şi la vîrstnici. În P.R. apar deci numeroşi autoanticorpi printr-un defect de interpretare a stimulului (auto) antigenic cîştigat genetic prin eliberarea clonelor limfocitare „interzise" sau prin alterarea structurilor antigenice proprii.

În fragmentele de sinovială inflamată au fost puse în evidenţă depozite de complexe imune cuprinzînd IgG (de obicei agregate de molecule IgG) şi anticorpi anti—IgG, printre care şi factori reumatoizi. La complexele de tip antigen — anticorp notate au fost descoperite, ataşate, segmente ale complementului. Aceste complexe imune sînt dispuse focal în structurile profunde sinoviale, în interstiţiu, perivascular, în preajma infiltratelor limfo-plasmocitare sau liniar imediat sub stratul bordant de sinoviocite.

Complexele imune evidenţiate sînt de două tipuri: a) IgG — F.R. IgM în poliartritele seropozitive; b) IgG — F.R. IgG — β_1-complement în P.R. seropozitive şi seronegative. Ele au fost descoperite şi în nodulii reumatoizi din ţesutul subcutanat periarticular sau în leziunile vasculare din P.R.

Prezenţa acestor complexe imune în locurile unde se declanşează şi se întreţine inflamaţia reumatoidă (sinoviala, vasul, nodulul reumatoid periarticular) ridică problema lămuririi mecanismelor prin care acestea pot „amorsa" inflamaţia. Aceasta poate apărea pe două căi: 1) fagocitarea sau pinocitarea complexelor imune în macrofage şi polinucleare, avînd drept consecinţă declanşarea inflamaţiei enzimatice (lizosomală); 2) activarea sistemului complementului seric, ale cărui componente pot reactiva, la rîndul lor, sistemul bradikininic, factorul Hagemann cu intrarea în joc a coagulării, fibrinoliza.

Prezenţa complexelor imune IgG—IgM sau IgG—IgG—β_1—C′ în polimorfonucleare şi macrofage a fost dovedită prin imunofluorescenţă. Delbarre a demonstrat că granulele fagocitelor conţin complexe IgG—F.R., alături de fibrină, componente ale complementului seric, şi alte macromolecule. Ca urmare a fagocitozei (cap. 5), suprasolicitarea sistemului lizosomal poate duce la moartea celulei cu eliberarea enzimelor lizosomale în mediul interstiţial sinovial şi în lichidul sinovial. Drept consecinţă are loc hidroliza proteoglicanilor, fibrelor de colagen şi glucozaminoglicanilor ţesutului conjunctiv (substanţa fundamentală şi fibrele), avînd drept urmare modificări structurale focale, distrucţii şi eliberarea de polipeptide, unele cu rol flogogen; acest proces explică mecanismul prin care panusul sinovial invadează cartilajele, capetele osoase diartrodiale şi capsula arti-

Scanned with OKEN Scanner

culară în stadiile avansate ale P.R. De asemenea, se alterează structurile conjunctivale ale pereţilor vasculari, cu creşterea permeabilităţii, exsudare de plasmă şi fibrinogen. Apar produşi de proteoliză, osmotic activi, factori adjuvanţi ai edemului inflamator; se activează factorul XII al coagulării (Hagemann) de la care pleacă o serie largă de verigi patogenice importante; au loc fibrinogenoliza în produşi de degradare ai fibrinogenului cu rol chimiotactic pentru leucocite polimorfonucleare şi activarea sistemului complementului seric prin acţiune litică, de „clivaj" enzimatic, avînd drept consecinţă efectul chimiotactic leucocitar, activarea sistemului kalicreinic-bradikininic, eliberarea histaminei, serotoninei ş.a. Tot acest complex de mecanisme intricate şi interdependente are drept consecinţă apariţia unor structuri antigenice (imunoglobuline „atacate" enzimatic, fibrinoid, factori ai coagulării şi fibrinolizei etc.), care stimulează secundar producerea de noi anticorpi, închizînd astfel un cerc vicios.

Nu există boală naturală în patologia veterinară asemănătoare P.R. la om. O excepţie ar fi artrita cu erysipelotrix la porc care poate genera în ser macroglobulină cu activitate de factor reumatoid eterolog.

Există *modele experimentale de poliartrite* realizate prin mecanism imunologic. Modelul Glynn (1962) se realizează prin imunizarea iepurelui cu proteine proprii uşor alterate în focare inflamatorii chimice şi înrobate în adjuvant Freund. Reinjectarea intraarticulară a aceleiaşi proteine declanşează o artrită cronică inflamatorie cu modificări histologice sinoviale de tip reumatoid şi cu posibilitatea apariţiei în ser a unei globuline cu activitate de factor reumatoid. Acest model permite demonstrarea rolului autoanticorpilor apăruţi contra unor proteine proprii denaturate în declanşarea unei artrite inflamatorii. Pearson (1956) şi Stoerk au realizat modelul cunoscut al poliartritei cu adjuvant Freund complet la şobolan.

c) În altă ipoteză, mecanismul patogenic al P.R. este de asemenea imunologic, dar declanşat de un factor iniţiator exogen, presupus microorganism.

Este dovedită reactivitatea particulară a limfocitelor şi plasmocitelor bolnavilor cu P.R. (cap. 6). Deşi la unii antigeni infecţioşi (brucelină, stafilococi), producerea de anticorpi specifici nu a fost semnificativ crescută (Müller), la alţi germeni (unii streptococi, colibacili, *Clostridium perfingens*) există o evidentă creştere a sintezei de anticorpi (Moulias). Tocmai la aceştia din urmă germeni s-au evidenţiat în membrana şi capsula lor determinanţi antigenici care se găsesc şi în structura glucozaminoglicanilor substanţei fundamentale a ţesutului conjunctiv uman.

Svartz administrează *Distreptococus agalactiae* la animal şi provoacă o artrită reumatoidă cu prezenţă de macroglobulină hemaglutinantă. Consideră că sursa de infecţie este laptele pasteurizat din care cultivă germenii respectivi, faţă de care la toţi bolnavii reumatoizi pune în evidenţă anticorpi. Este uşor de presupus că la un stimul antigenic exogen, reprezentat de germenii notaţi, pot apărea anticorpi care se pot cupla cu structuri antigenice proprii, nemodificate, datorită asemănării structurale. Aceste complexe fixate în focare ale substanţei fundamentale conjunctive pot declanşa şi întreţine inflamaţia reumatoidă, conform mecanismelor descrise.

Scanned with OKEN Scanner

Apare astfel plauzibil rolul declanşant al puseelor inflamatorii pe care îl joacă acutizarea unor infecţii cronice urinare, intestinale, biliare, pulmonare, de focar, la bolnavii cu P.R.

d) Etiologia infecţioasă a P.R. nu a fost niciodată abandonată cu adevărat, deşi variatele izolări de germeni sau micoplasme n-au fost confirmate ulterior. În ultimii ani s-au adus alte argumente interesante în direcţia etiologiei virale a P.R. Se invocă astfel un virus „lent" defectiv, cu tropism sinovial, responsabil de inflamaţie. El ar declanşa în continuare tulburări imunologice cunoscute prin modificarea informaţiei genetice a unor celule din organismul infectat.

Sînt cunoscute manifestările poliartritice din faza de debut a hepatitei virale, a rubeolei şi a mononucleozei infecţioase. Recent au fost izolate unele cazuri de poliarterită nodoasă cu manifestări articulare, la care a fost evidenţiată prezenţa antigenului Australia, a cărui structură asemănătoare virusurilor este cunoscută. Warren a transmis o poliartrită acută şoricioaicelor gravide prin injectarea unui filtrat de sinovială reumatoidă în puseu inflamator. Culturile de celule sinoviale reumatoide se diferenţiază de cele normale, probabil prin modificarea genomului de către virus. În acest sens, după cum se ştie, o celulă care găzduieşte un virus nu mai poate fi afectată (efect citopatogen) de infecţia cu alt virus. Două laboratoare au comunicat deja lipsa de efect citopatogen în culturile de celule sinoviale reumatoide supuse la infectare cu virus Newcastle sau virus rubeolic, spre deosebire de culturile de celule sinoviale normale, care în condiţii similare sînt afectate.

În citoplasma limfocitelor şi celulelor glomerulare din LED au fost descrise elemente specifice cu structură „virală" (Bariéty, Amor). Scolnick şi Spiegelman au demonstrat că în celulele reumatoide există o ADN-polimerază dependentă de ARN, probabil de origine virală.

Aceste argumente justifică atenţia cu care este privită etiologia virală a P.R., printre alţii de către reputaţi reumatologi ca Ziff, Duthie şi Delbarre. La simpozionul CIBA — GEIGY asupra P.R. (1971) s-a cerut accelerarea cercetărilor în direcţia izolării virusului generator de inflamaţie sinovială. Este posibil ca factorul genetic al P.R. să reprezinte de fapt o toleranţă imunologică la infecţia cu virusul „lent" presupus patogen.

e) Cîteva argumente vin să ridice ipoteza participării hipersensibilităţii tardive în inflamaţia reumatoidă: apariţia P.R. la bolnavi agammaglobulinemici (deci cu o producţie redusă de anticorpi circulaţi); descoperirea infiltratelor limfoplasmocitare specifice hipersensibilităţii întîrziate în sinovita reumatoidă; efectul favorabil al imunodepresoarelor în clinica P.R. şi în împiedicarea ecloziunii artritelor experimentale prin model imunopatogenic (modelul Pearson cu adjuvant Freund).

Rezultatele experimentale sînt însă discordante (Delrieu). Astfel, testele de transformare limfoblastică la antigeni IgG sau la extracte de sinovială auto- sau omologă dau rezultate variabile în mîinile diverşilor cercetători (Kacaki, Runge). În schimb, studiile cu ajutorul testului de inhibare a migrării leucocitelor par să indice o sensibilitate celulară la IgG (seric), care a fost demonstrată şi în cazul folosirii ca antigen a extractelor sinoviale.

Scanned with OKEN Scanner

Studiile *in vivo* urmărind intradermoreacţiile la diverşi antigeni sînt de asemenea greu de interpretat. Lemursiaux a utilizat ca antigen IgG umane normale şi denaturate observînd o evidentă hiperreacţie cutanată imunitară tardivă la pacienţii cu P.R., în comparaţie cu lotul martor. Chanderlein a folosit o IgG autologă denaturată, fără să remarce deosebiri semnificative. Williams a raportat izolarea de *Mycoplasma fermentans* în sinoviala pacienţilor cu P.R. şi a testat cutanat şi prin testul inhibării migrării leucocitelor reactivitatea imunologică la acest germen. A obţinut rezultate semnificative pozitive pentru susţinerea rolului antigenic jucat de *Mycoplasma fermentans* în dezvoltarea hipersensibilităţii tardive în sinoviala inflamată. Aceleaşi testări făcute la antigeni difteroizi au dat rezultate neinterpretabile.

Dumonde a studiat artrita experimentală la păsări agammaglobulinemice (bursectomizate neonatal). Dacă se injectează un antigen în formă insolubilă intra-articular, se declanşează o artrită imunologică cu caracterele sinovitei cronice în care hipersensibilitatea tardivă joacă deci un rol important. Dacă limfocitele recoltate de la un animal imunizat sînt injectate intra-articular la porcul de Guineea sensibilizat în prealabil la acelaşi antigen, artrita se dezvoltă mai repede, inflamaţia fiind mai intensă (Bacon, Dumonde).

Aceste argumente experimentale adăugate celor clinice ne permit să înţelegem rolul important pe care îl joacă hipersensibilitatea tardivă la antigeni infecţioşi sau gammaglobulinemici în patogenia inflamaţiei imunologice reumatoide.

Într-un studiu din 1971, Dumonde consideră ipotetic P.R. drept o boală mixtă de imunodeficienţă şi hiperimunitate în două momente diferite ale agresiunii microorganismelor, care pot fi virusuri lente, difteroizi, micoplasme, fungi sau protozoare. În prima etapă, la contactul cu germenul agresor, sistemul imunocompetent este deficient, probabil genetic, permiţînd menţinerea viabilă în sinovie a acestuia pentru multă vreme. Prezenţa sa îndelungată poate juca rol de excitant antigenic al hipersensibilităţii tardive, infiltratul limfoplasmocitar sinovial declanşînd inflamaţia cronică reumatismală prin mediatori limfokinici (cap. 2 şi 7). Este interesant să adăugăm aici ipoteza lui Ryckewaert, care consideră boala reumatoidă de fond ca răspunzînd mecanismului hipersensibilităţii tardive, iar puseurile evolutive ca fiind datorate complexelor imune a căror patogenitate a fost discutată anterior.

În cadrul acestor ipoteze este posibil ca agentul iniţiator să determine o modificare metabolică a celulelor liniilor conjuctive cu repercusiuni asupra permeabilităţii vasculare şi caracteristicilor fizico-chimice în focar (presiune oncotică, pH, încărcare ionică etc.).

În final, poate fi prezentată, adaptată după Hamerman, o ipoteză patogenică concluzivă, reunind principalele mecanisme generatoare de boală expuse anterior.

Agentul iniţiator al bolii găzduit în celulele sinoviale şi alte celule ale ţesutului conjunctiv din periarticulaţie, derm, pleură, perete arterial şi alte organe este foarte probabil un microorganism, cel mai plauzibil un virus lent. Organismul „tolerant" imunologic, probabil genetic, pentru acest agent infecţios, permite cantonarea şi dezvoltarea lui în organele menţionate, în special în sinovială. Anumiţi factori favorizanţi (traume,

Scanned with OKEN Scanner

droguri, tulburări psihice, frig etc.) pot crea condiţii de dezvoltare mai activă a germenilor.

Consecinţele persistenţei îndelungate a microorganismelor în ţesuturile conjunctive menţionate sînt :

a) pe de o parte alterarea metabolismului celulelor mezenchimale cu fragilizări lizosomale, secreţie de colagen patologic, ducînd la inflamaţia prin mecanism enzimatic (proteolitic) ; acesta, la rîndul său, activează sistemul complementului seric, sistemul kininelor, sistemul fibrinolitic, producînd cu timpul distrugerea cartilajelor artrodiale şi a capsulei articulare ;

b) pe de altă parte determină intrarea în joc a mecanismelor imunologice pe terenul unei reactivităţi particulare a celulelor imunocompetente, interferînd fie genomul limfocitar, fie constituind o sursă antigenică importantă.

Aceste căi duc la apariţia sinovitei reumatoide, care proliferează în panus invadant al capetelor osoase diartrodiale, rezultînd stadiile tardive distructive ale P.R.

Principii terapeutice în poliartrita reumatoidă. Obiectivele terapiei P.R. au rămas neschimbate în ultimii ani : reducerea durerii, prevenirea diformităţilor articulare, menţinerea unei funcţii articulare convenabile. În actuala etapă a cunoştinţelor noastre, tratamentul este eminamente patogenic. Putem influenţa terapeutic următoarele verigi ale mecanismului patogenic al bolii.

1. Inhibarea sintezei de anticorpi circulanţi — factori reumatoizi, anticorpi anti-ADN şi alţii. Drogurile reputate imunodepresoare, cele mai utilizate fiind ciclofosfamida, clorambucilul, azathioprina, deşi pe studii randomizate produc o ameliorare clinică în formele agresive de boală, influenţează inconstant titrul factorilor reumatoizi şi capacitatea anticorpoformatoare testată. Este posibil ca acţiunea clinică favorabilă să se datoreze altor proprietăţi farmacodinamice (antiinflamatorii).

2. Inhibarea formării şi/sau dislocarea complexelor imune (s-a încercat practic numai utilizarea heparinei în doze anticomplementare).

3. Inhibarea fagocitării complexelor imune şi a consecinţelor acesteia. Medicamentele citotoxice, antimetaboliţii, iradierea în spectrul gamma pot reduce puterea fagopinocitantă a macrofagelor, oprind în fază incipientă unul dintre mecanismele inflamaţiei enzimatice.

4. Inhibarea imunităţii celulare. Azathioprina, iradierea cu raze X sau în spectrul gamma şi beta, sinovectomia chirurgicală, sinoviortezele beta-radiante, drenarea ductului limfatic toracic produc ameliorări clinice prin depresiunea hipersensibilităţii tardive mediate celular, fie în întregul organism, fie local, la nivelul sinovialei.

5. Stabilizarea membranelor lizosomale şi neutralizarea enzimelor lizosomale. Crizoterapia şi toate drogurile antiinflamatorii prezintă, printre mecanismele de acţiune, şi puterea de a reduce permeabilitatea membranelor lizosomale. Încercările terapeutice cu antienzime au dat rezultate discordante, efectul favorabil fiind de scurtă durată.

6. Neutralizarea mediatorilor chimici ai inflamaţiei şi durerii. S-au demonstrat astfel de acţiuni pentru salicilaţi, corticosteroizi, antipaludice de sinteză, fenilbutazonă, indometacin, ibuprofen.

Scanned with OKEN Scanner

7. Influenţarea metabolismului ţesutului de colagen (fibrilogeneză, glicoproteine şi proteoglicani). Medicamentele citotoxice, antimetaboliţii, fenilbutazona şi indometacina produc modificări în metabolismul fibroblastic, cu consecinţe în structura substanţei fundamentale conjunctive în focarul inflamat.

8. Posibilitatea influenţării factorilor de iniţiere în P.R. Încercările de terapie antivirală (interferon, idoxiuridină) se află abia la început şi sînt neconcludente. Se preconizează realizarea unei „toleranţe" imunologice la agentul agresor sau perfuzarea unor limfocite în prealabil sensibilizate la agentul iniţial.

Există momentan un decalaj evident între cunoştinţele teoretice în progres şi posibilităţile practice limitate de a ajuta bolnavul cu P.R. Acest fapt generează un oarecare coeficient de empirism terapeutic, medicaţia antiinflamatorie — antalgică rămînînd încă pe primul plan.

C. PERI-(POLI)ARTERITA NODOASĂ

ŞT. BERCEANU

Definiţie şi cadrul nosologic. Peri-(poli)arterita nodoasă (P.A.N.) este prima formă de boală alergică vasculară descrisă anatomoclinic. În 1866, Küssmaul şi Mayer o descriu ca o entitate clinică bine conturată, după ce cu cîţiva ani înainte Rokitansky (1852) semnalase primul leziunile histologice.

În prima parte a secolului al XX-lea s-au semnalat cazuri relativ rare, astfel că pînă în 1960 nu depăşeau totalul de 500. După 1960 au apărut numeroase propuneri prin care se încearcă o unificare a tuturor formelor de angeite alergice, cu tablouri clinice variate, şi separarea formei clasice de P.A.N. tip Küssmaul-Mayer cu evoluţie malignă de alte angeite alergice, unele secundare sau chiar primitive, însă cu evoluţie mai puţin severă.

În clasificarea lui Zeek (1953), care a rămas destul de raţională şi relativ restrînsă pentru un grup de angeite, se disting: 1) P.A.N. în forma clasică K—M; 2) angeitele de hipersensibilizare; 3) arteritele reumatice; 4) arterita temporală şi 5) angeitele granulomatoase alergice. Unitatea lor o constituie leziunea de necroză fibrinoidă, deja semnalată pentru grupe destul de polimorfe de către Klinge şi Rössle şi de către Rich; acesta din urmă (1947) descrie forme secundare în boala serului şi le reproduce experimental. După separarea angeitelor considerate desigur ca autoimune din L.E.D. (Klemperer şi Gross) şi a afecţiunilor apropiate de acesta (sindromul Sjögren, sindromul Stevens-Johnson), la grupul de angeite necrotizante al lui Zeek s-au asociat alte afecţiuni în care s-a relevat leziunea de necroză fibrinoidă arteriolară, cu sau fără participare renală. Cercetări recente asupra complexelor imune virale au adăugat un mecanism nou în care intervine starea de hipersensibilizare faţă de Ag virale ca Ag Australia (Blumberg şi colab., 1970).

Scanned with OKEN Scanner

În clasificarea lui Shulman (1971), în afară de P.A.N. tipică, se recunosc forme secundare de angeită prin sensibilizare specifică sau în cadrul altor boli de hipersensibilizare în care leziunea vasculară poate sau nu să fie predominantă. Astfel, angeitele din L.E.D., din bola reumatismală acută sau cronică, din sclerodermie sau dermatomiozită. Formele granulomatoase cu determinări pulmonare, descrise de Churg şi Strauss (1951), cu eozinofilie accentuată sau forma de granulomatoză Wegener apar ca tipuri speciale în care infiltraţia granulomatoasă este predominantă. La acestea se mai poate adăuga sindromul Goodpasture, cu etiologie autoimună bine precizată, în care leziunea necrotizantă în vasele pulmonare şi renale este determinată de Ac antimembrane bazale (Mc. Cluskey, 1971).

Dacă P.A.N. şi grupul mai restrîns descris de Zeek pot fi luate în discuţie ca boli de hiperimunizare cu mecanisme prin leziuni de complexe imune, în foarte multe din angeitele din clasificarea lui Shulman nu se poate susţine un mecanism autoimun. În prezent, acest mecanism trebuie dovedit nu numai pe baza leziunilor histologice de necroză fibrinoidă clasică şi de infiltraţie granulomatoasă, ci prin prezenţa de complexe imune cu sau fără C′ pe baza analizelor histochimice şi a anumitor caractere de microscopie electronică (Michael, 1971; Mc. Cluskey, 1971).

Periarterita nodoasă, în forma sa clasică, este o boală bine conturată după evoluţie, simptome clinice şi leziunile histopatologice.

Simptomele clinice variază în raport cu predominanţa leziunilor în anumite ţesuturi. Există însă semne generale de boală sistemică care o apropie de bolile acute prin complexe imune. Predomină la bărbaţi în raport faţă de femei de 2/1 sau 4/1. Se întîlneşte şi la copii (10—12% din cazuri.)

Febra este semnul cel mai constant de boală generală, existînd cam la 70% din cazuri (Backman, 1956); poate fi continuă, cu caractere de infecţie gravă hipertoxică sau discontinuă cu unele perioade recurente sau ondulante. Mai rar (25—30% din cazuri) apare ca o stare subfebrilă sau chiar afebrilă cu perioade de recrudescenţă.

Artralgiile, cu sau fără exsudaţie articulară, apar alături de mialgii fa cel puţin 40% din cazuri. Cu timpul, sau foarte repede, muşchii se atroliază şi bolnavul este imobilizat prin dureri şi scăderea forţei musculare.

Simptomele cutanate sînt foarte caracteristice însă apar numai la 25—44% din cazuri. Mai frecvente sînt cele cu caracter anafilactic ca erupţii urticariene în papule sau placarde, rachuri diverse, ca şi erupţii purpurice sau exematiforme. Nodulii cutanaţi sînt cei mai caracteristici însă apar cel mult la 20% din cazuri; sînt mici, depăşind rar un bob de orez, nu modifică culoarea pielii şi în general sînt dureroşi în perioada de formare. Ulceraţia nodulilor constituie altă caracteristică a simptomelor cutanate. Apar mai ales la copii şi seamănă cu cei din purpura Schönlein—Henoch în forma trombozantă. De cele mai multe ori atît nodulii, cît şi ulceraţiile apar şi dispar în pusee repetate în perioada de exacerbare a febrei şi a durerilor musculo-articulare. Se poate însă ca ulceraţiile să fie întinse, formînd placarde de gangrenă cutanată care dacă se remit lasă cicatrici indelebile.

Simptomele de atingere cardiovasculară şi cardiorenală constituie un alt grup de semne care, asociate celor articulare şi cutanate, sînt foarte

Scanned with OKEN Scanner

preţioase pentru diagnostic. Hipertensiunea arterială apare la 44—58% din cazuri (Copeman, 1956; Goldberger, 1959; Mackay şi Burnet, 1963); are caractere de hipertensiune malignă, însoţindu-se frecvent de fenomene de encefalopatie hipertensivă şi edem cerebral cu crize convulsivante repetate. Manifestările cardiace sînt în general tăcute; pot fi şi progresive, ducînd la insuficienţă cardiacă paroxistică stîngă sau la insuficienţă cardiacă globală. Deşi există leziuni intense coronariene, modificările de Ecg, avînd în vedere atingerea ramurilor mici arteriale, apar foarte rar ca semne majore de infarct de miocard. Pericardita survine singură sau intricată cu leziuni coronariene miocardice şi cu exsudate în alte seroase. Nu s-au semnalat leziuni endocardiace. Afectarea renală în formele de evoluţie clasică severă este obişnuită; însoţeşte hipertensiunea arterială şi poate să determine prin leziuni de necroză fibrinoidă arteriolară insuficienţa renală ireversibilă. Proteinuria apare cel puţin la 60% din cazuri, fiind însă moderată sau mică, pe cînd hematuria, deşi rară (45%), poate să fie masivă.

Simptomele abdominale se caracterizează prin colici continue, subintrante, rezistente la tratament. Durerile abdominale pot să însoţească celelalte simptome generale în 2/3 din cazuri (Rose, 1957), însă există forme sistematizate abdominale, cu diaree continuă, vărsături, melenă şi hematemeze grave. Formele cele mai severe sînt cele care dau ocluzii intestinale prin pareză şi mai ales cele prin infarct mezenteric. Acestea pot să evolueze rapid în cîteva zile cu simptome de abdomen acut (Berceanu şi Cuciureanu, 1946). În cadrul formelor abdominale trebuie semnalate determinări hepatice şi colecistice, cu icter, hepatomegalie dureroasă şi unele manifestări cu caracter de atingere pancreatică acută verificate la necro prin leziuni arteriale specifice.

Simptomele pulmonare, în afara unor manifestări secundare, ca pleurezie uscată sau serofibrinoasă, infiltrate trecătoare însoţite sau nu de tulburări funcţionale, sînt bine individualizate determinările granulomatoase specifice. În forma lor caracteristică concurează sindromul de granulomatoză Wegener, cu localizări focale în parenchimul pulmonar şi ulceraţii în bolta palatină ce dau leziuni necrotice ale mucoasei şi distrugeri osoase grave. Rose (1957) a descris o formă de angeită necrotizantă a arteriolelor pulmonare care evoluează sistemic cu hipertensiune în mica circulaţie şi simptome de cord pulmonar decompensat ireversibil. Natura de angeită necrotizantă tip P.A.N. este discutabilă. În I.M.I. am observat două asemenea cazuri de cord pulmonar secundar unor manifestări de boală sistemică vasculoconjunctivă febrilă. La unul din cazuri există încă noduli cutanaţi cicatrizaţi, cu depunere de lipide şi calciu, în care am putut distinge sechele scleroase de leziuni vasculare trombozante.

Simptomele nervoase în P.A.N. au fost semnalate de mult, localizarea vasculonervoasă, centrală sau periferică, fiind foarte frecventă. Într-o statistică mai recentă, Ford (1965) găseşte simptome nervoase în aproape 80% din cazuri; după statistici mai vechi, paralizia de nervi periferici (median, cubital, radial, sciatic, crural) apare la 40—42% din cazuri (Bäckman, 1956), iar localizarea centrală în 50% din cazuri. Există simptome de localizare difuză, ca stare confuzională, carfologie sau la copii convulsii, delir; simptomele sînt consecinţa leziunilor arteriolare şi a edemului cerebral şi encefalopatiei hipertensive. Semnele de atingere

Scanned with OKEN Scanner

sistematizată focală în sistemul nervos central, cu mono- şi hemiplegii, sînt mai rare, avînd în vedere localizarea leziunilor pe vasele mici. De remarcat că una din cele mai complete descrieri de P.A.N. cu localizare în sistemul nervos central şi periferic a fost făcută de Gh. Marinescu şi State Drăgănescu în 1927.

L.C.R. este modificat frecvent, chiar dacă nu sînt semne de atingere nervoasă centrală. Apare o disociaţie albumino-citologică, cu albuminorahie peste $1^0/_{00}$.

Diagnostic de laborator. Nu există modificări caracteristice biologice în afară de leziunile histopatologice care se precizează prin biopsia nodulilor sau ulceraţiilor cutanate. Biopsiile musculo-cutanate făcute în regiunile musculare dureroase pot să fie pozitive, punînd în evidenţă leziuni de poliangeită specifică în 35—40% sau 40—60% din cazuri (Neustadt, 1963). Biopsii cu rezultate pozitive se pot face şi în alte ţesuturi ca tubul digestiv (mucoasa rectală), rinichi, ficat, testicul, pulmon.

Alte teste de laborator arată modificări nespecifice de boală inflamator-alergică difuză; leucocitoză moderată sau accentuată cu neutrofilie şi adesea eozinofilie; eozinofilia apare în 90% din cazurile cu modificări pulmonare. Există uneori trombocitoze şi semne de hipercoagulare cu fibrinogen crescut pînă la 15 $g^0/_{00}$. Anemia apare în formele prelungite sau secundare hemoragiilor, precum şi prin insuficienţă renală.

Explorările humorale arată modificări necaracteristice: V.S.H. în general crescut; C′ seric în general normal, uneori crescut ca în reumatismul poliarticular acut; proteinemia arată modificări necaracteristice cu creşteri de $alfa_2$-globulină şi creşteri în sistemul gamma de tip policlonal. Testele pentru auto-Ac sînt în general negative. Testul Coombs, F.R., F.L., crioglobulinele apar rar şi sînt sporadice. F.L. cu prezenţa de celule lupice poate să precizeze diagnosticul de angeită prin L.E.D. şi rar angeită prin F.R., toate întîlnindu-se în unele sindroame mai complexe de crioglobulinopatii primitive (Meltzer şi colab., 1966).

Recent, în forme mai puţin caracteristice de P.A.N. s-au găsit complexe imune circulante cu Ag Australia sau cu alte Ag virale (Oldstone şi Dixon, 1969; Gocke şi colab., 1971; Blumberg şi colab., 1970, Baker şi colab., 1971).

Histopatologie şi histopatogeneză. Leziunea anatomo-patologică formează caracteristica majoră a P.A.N. Macroscopic, arteriolele prezintă îngroşări nodoziforme, mici anevrisme, hemoragii în perete şi în ţesutul conjunctiv din jur, tromboze, cu sau fără hemoragii sau cu leziuni necrotice ca cele cutanate şi renale. În pulmon sînt caracteristice leziunile granulomatoase cu localizare nodulară sau confluentă.

Examenul histopatologic arată leziuni apropiate de cele din boala serului experimentală sau umană, acută sau cronică (Milgrom, 1965). Caracteristica leziunilor constă din intricarea mai multor componente care pot să coexiste sau să se succedă în timp: 1) edem difuz al peretelui predominînd spre endoteliu sau adventice cu imbibiţie de material fibrinoid PAS-pozitiv; 2), leziuni de degenerescenţă şi necroză fibrinoidă, cu îngroşarea tunicilor, la început prin depunere de material eozinofil şi apoi cu procese de necroză fibrinoidă; 3), infiltraţie inflamatorie difuză în tot peretele vascular, cu aglomerări focale predominante extern sau intern, constînd din granulocite, neutrofile, rare eozinofile, histiocite şi limfocite

Scanned with OKEN Scanner

şi de multe ori frecvente plasmocite. Mai rar există celule gigante, dar destul de frecvent există leziuni nucleare cu formarea de corpi hematoxilinici cu material bazofil apropiat de cel descris în leziunile lupice (fig. 26); 4), endotelită trombozantă prin material amorf bazofil şi, uneori, cu infiltraţie de celule inflamatorii; 5), în stadiul ultim, leziuni cicatriciale cu scleroză dispusă în insule focale, cu resturi de celule de inflamaţie cronică sau de lumen vascular trombozat (Berceanu şi Ciucureanu, 1946). În afara sau în apropierea vaselor se pot găsi leziuni inflamatorii granulomatoase şi de necroză fibrinoidă.

După ţesuturile în care predomină, se produc leziuni specifice ca cele de glomerulonefrită cu caracter acut sau cronic, difuze sau focale; în sistemul nervos apar focare mici de ramoliţie, tromboze şi hemoragii, iar în nervii periferici leziuni degenerative în fasciculele nervoase prin infiltraţia caracteristică a vaselor din perinerv.

Leziunile asociate în capilare nu sînt caracteristice; pot prezenta tromboze, endotelită, hemoragii, fiind asemănătoare cu cele din purpura Schönlein-Henoch, spre care pot exista forme de trecere; de asemenea se pot asocia leziuni venoase în unele organe cu focare de granulomatoză ca în ficat.

În ganglionii limfatici şi splină se observă proliferări polimorfe necaracteristice ale celulelor reticulo-histiocitare, uneori sistematizate sub formă de limfom giganto-folicular şi mai rar de granulom sarcoid. Se pot întîlni însă leziuni în arteriole şi micile artere caracteristice de P.A.N. în capsulă, pericapsular sau chiar în sinusurile marginale.

Etiopatogenie. În forma clasică primitivă nu există o etiologie cunoscută. S-au incriminat infecţii microbiene, streptococice, stafilococice, fungice, virotice. În ultimul timp s-a atribuit un rol sensibilizării prin droguri şi infecţiilor streptococice faringiene (Rose şi Spencer, 1958). Este sigur că forma de angeită necrotizantă secundară alergiilor prin droguri sînt forme benigne trecătoare şi diferă ca leziuni şi histogeneză. Leziunile nucleare pot ridica problema unor factori toxici antinucleari ca în L.E.D., care însă nu se găsesc în circulaţie. De asemenea, leziunea de colagen nu se explică prin Ac specifici circulanţi, deşi este bine dovedit efectul citotoxic al Ac-anticolagen şi anti-membrane bazale renale (Mc. Cluskey, 1971; Michael şi colab., 1971; Poskitt, 1970; Adelman şi colab., 1972), cum s-a găsit experimental şi în alte boli de colagen umane. Cu toate că leziunile reproduc pe cele din boala complexelor imune, în P.A.N. sînt mai puţine cercetări pentru analiza imunochimică a leziunilor vasculorenale. Încercările de analiză a componentelor materialului nu au dat rezultate concludente pentru natura de complexe imune. Mellors şi Ortega (1956) au găsit albumine şi gammaglobuline considerate ca legate de Ac, iar Lachman şi colab. (1962) C′, alături de fibrinogen şi gammaglobuline (Paronetto, 1969). Este puţin probabil ca acestea să fie componente ale complexelor imune căci în serul bolnavilor nu apar Ac care să se lege specific de Ag pereţilor arteriolari. În studii de imunofluorescenţă sau prin teste de intradermoreacţie cu extracte antigenice arteriale nu s-a pus în evidenţă o reacţie de hipersensibilizare, imediată sau tardivă (Bernard, 1957; Berceanu şi colab., 1965).

Natura imună nu se poate atribui decît pe baza similitudinii leziunilor cu cele prin complexe imune, fapt presupus recent de mulţi imuno-

Scanned with OKEN Scanner

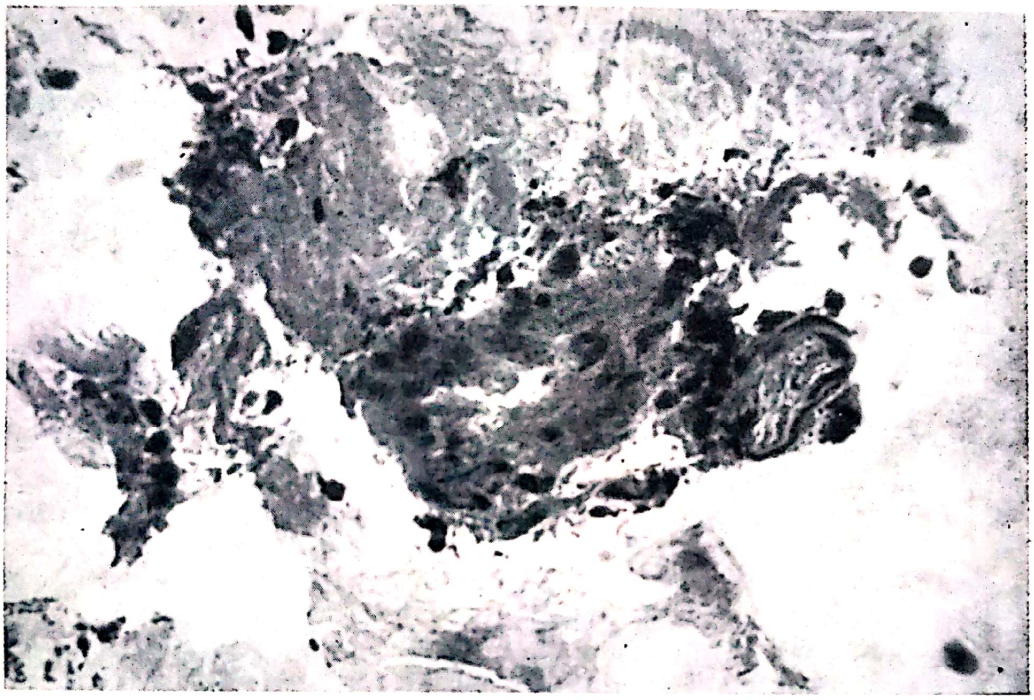


Fig. 26. — Degenerescenţă bazofilă cu formare de corpi hematoxilinici în hipoderm (după Berceanu şi Cuciureanu, 1946 ; col. HE, ob. 40).

Scanned with OKEN Scanner

logişti contemporani (Shulman, 1971; Michael şi colab., 1971). Teoria complexelor imune virale se poate lua în considerare în cazurile descrise recent la om cu Ag Australia sau cu Ag gripale şi mai ales în comparaţie cu angeitele autoimune necrotizante de la unele animale ca în boala „mink aleutian disease", precum şi în angeitele necrotizante cu caracter spontan la şobolan (Yang, 1965), pisică (Altera şi colab., 1966) precum şi la linia de şoareci albi din Noua Zeelandă care fac periarterită nodoasă, spre deosebire de linia de şoareci negri (NZB) care fac boala lupică (Wigley şi Couchman, 1966).

Evoluţie şi prognostic. În forma clasică este totdeauna gravă, cu mortalitate de 65—85%; formele considerate vindecate par să nu fie P.A.N. clasică, ci alte tipuri de angeite necrotizante secundare sau primitive. Formele cronice de lungă evoluţie care nu dau visceralizări, cele cu determinări cutanate articulare sau musculare (Neustadt, 1963), unele forme de localizări organice nesistemice se pot vindeca chirurgical ca cele cu determinări apendiculare sau în vezicula biliară. Formele tipice pot să aibă o evoluţie fudroaiantă, fatală de cîteva săptămîni; formele acute de cîteva luni; formele subacute de 1—2 ani şi formele cronice cu remisiuni şi recăderi de 5—15 ani. Nu se ştie în ce măsură remisiunile sînt influenţate de tratament. Moartea survine în formele acute şi supraacute prin insuficienţă renală cu hipertensiune malignă, prin determinări cerebrale, cu hemoragii, edeme şi alte semne de encefalopatie hipertensivă; de asemenea prin abdomen acut după infarct mezenteric. În formele cronice, moartea survine după o evoluţie lungă de scleroză renală, de insuficienţă cardiacă sau prin caşexie şi infecţii secundare.

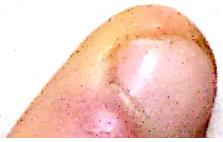
Tratamentul are aceleaşi indicaţii de corticoterapie ca şi în L.E.D. Administrarea de alte droguri imunosupresive, de antimalarice, concomitent cu tratamentul de hipertensiune arterială, de insuficienţă cardiacă şi insuficienţă renală pot să producă remisiuni, mai ales în formele subacute şi cronice. Este greu de spus însă după statisticile actuale dacă aceste tratamente moderne au influenţat evoluţia naturală, gravă, a formelor clasice de P.A.N. După statistica Clinicii Mayo, pe 110 cazuri, supravieţuirile peste 5 ani apar în 48%; se pare că fenomenele acute sistemice generale în ţesuturile colagene pot să fie influenţate de cortizon. Leziunile renale în formele cronice şi hipertensiune arterială rămîn neinfluenţate. De asemenea, formele cu evoluţie acută şi mai ales cele fudroaiante sînt rezistente la orice tratament.

D. ALTE ANGIOPATII AUTOIMUNE

ŞT. BERCEANU

1) ARTERITA TEMPORALĂ CU CELULE GIGANTE

Face parte din grupa de angiopatii imune prin leziunile histopatologice apropiate de ale P.A.N. Acestea constau din intricarea unui proces sclerozant şi trombozant al peretelui arterei temporale, cu leziuni de necroză focală, granulomatoză în tunica medie, cu numeroase celule gigante.



Caracterul de panarterită granulomatoasă o leagă de P.A.N., de care se deosebeşte prin bogăţia de celule gigante. Semnalată prima dată de Hutchinson, în 1890, a fost descrisă ca o entitate anatomoclinică distinctă de Hurton în 1932.

Clinic se manifestă predominant la femei (75%), în general după 60 de ani ; în forma limitată apare ca o arterită temporală subacută monosau bilaterală. Artera temporală pe o anumită porţiune este tumefiată, dură, roşie şi cu edem inflamator în jur. Se însoţeşte de o cefalee temporală puternică pulsativă. Cum în general se asociază leziuni în artera retiniană, apar tulburări cu scotoame şi alte tulburări de vedere pînă la amauroză. Starea generală este moderat sau sever alterată, cu febră, slăbire generală, toropeală, uneori dureri de încheieturi, semne de anemie, tahicardie. În unele forme există semne de arterită sistemică, cu prinderea mai multor ramuri arteriale, ca radiala, cu scădere de puls şi tensiune ; prinderea arterelor cerebrale determină tulburări nervoase sistemice difuze, cu stare confuzională, convulsii şi chiar paralizii sistematizate şi comă. În unele cazuri apar dureri în masele musculare, ca cele descrise în polimialgia reumatică care s-ar asocia cu arterita temporală în 50% din cazuri (Bevan şi colab., 1968). Prin biopsia musculară s-au pus în evidenţă leziuni arteriale ca cele din artera temporală, descrise ca un sindrom aparte de „polimialgia arteritis". Această difuziune sistemică, precum şi debutul şi evoluţia febrilă sînt argumente pentru integrarea arteritei Hurton în cadrul angeitelor sistematizate tip P.A.N. cu care are leziuni asemănătoare.

Investigaţiile de laborator dau rezultate nespecifice care nu pledează sigur pentru o boală autoimună, ci pentru o afecţiune inflamatorie a ţesutului colagen. Există o leucocitoză moderată, uneori cu eozinofilie, V.S.H. crescut între 60 şi 80 mm/oră, modificări nespecifice serologice cu creşteri de alfa$_2$-globuline şi gammaglobuline de tip policlonal, precum şi creşteri de fibrinogen. Diagnosticul se pune pe baza leziunilor histologice după biopsia segmentului arterial temporal.

Evoluţia este în general benignă, cu durată de cîteva luni. Există cazuri cu evoluţie de 1—5 ani, cu pericol de cecitate în 30% din cazuri.

Tratament. Corticoterapie prelungită la care reacţionează foarte bine ; se va continua cura de cortizon în doze moderate pînă la normalizarea V.S.H., chiar dacă semnele clinice au retrocedat.

2) ARTERITA ARCULUI AORTIC

A fost descrisă de oftalmologul japonez Takayasu în 1908 care a semnalat, primul, asocierea tulburărilor şi leziunilor oculare cu lipsa pulsului la radială (boala Takayasu, boală fără puls). Apare predominant la femei în general la vîrstă mai tînără, cu repartizare foarte largă de la 9—45 de ani şi este considerată ca boală specifică populaţiilor din Asia ; a fost descrisă apoi în Europa şi în America în numeroase cazuri. Este interpretată acum ca o boală de colagen cu anomalii imune, uneori înso-

ţită cu tulburări locomotorii (Strachan şi colab., 1956 ; Asherson şi colab., 1968).

Clinic, în perioada constituită, simptomatologia este determinată de scăderea fluxului prin crosa aortică şi ramurile sale principale : scăderea şi uneori dispariţia de puls radial, dovedită intermitent la eforturi sau ridicări ale braţelor ; tulburări distrofice în extremitatea cefalică, cu alopecie, pielea feţii atrofiată, ulceraţii la extremităţi, perforaţii ale septului nazal. De asemenea, semne oculare cu tulburări de vedere, concomitent cu stări cunfuzionale, sincope consecinţă a scăderii fluxului cerebral. Există cazuri cu simptome de localizare pe alte sisteme circulatorii, ca cele renale cu hipertensiune arterială secundară, şi simptome de ischemie mezenterică complexă cu colici, diaree şi posibilitatea de infarct mezenteric sau infarcte de ramuri mici ale arterelor mezenterice.

Unii autori consideră că boala Takayasu limitată este o sechelă după o perioadă de atingere sistemică pe mai multe sisteme arteriale, cînd există fenomene clinice generale ca în P.A.N. : febră, dureri articulare şi mialgii, exsudate seroase, V.S.H. crescut, leucocitoză.

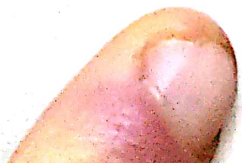
În a doua perioadă, manifestările generale se sting sau diminuă mult, predominînd cele descrise iniţial de Takayasu, la care se adaugă semnele de insuficienţă miocardică şi coronariană cu crize de angor şi insuficienţă cardiacă.

Caracterele de boală imună sînt reduse. Leziunile histopatologice, în perioada acută, iniţial sînt de arterită necrotizantă, cu focare sau pînze difuze de inflamaţie limfocitară în medie şi adventice, după care urmează o scleroză sistematizată, uneori cu dilataţii anevrismale însoţite frecvent de calcifiere (Cheitlin şi Carter, 1965), ca tulburări umorale, creşteri nespecifice de alfa$_2$-gammaglobuline, cel puţin la început cînd există şi V.S.H. crescut.

Autorii japonezi au găsit în ser auto-Ac faţă de Ag din peretele arterial prin R.F.C. şi hemaglutinare pasivă în majoritatea cazurilor (Nakao, 1967) ; cercetările serologice în Europa şi în America infirmă existenţa auto-Ac (Asherson, 1968 ; Strachan, 1966). Există însă cazuri izolate în care s-au pus în evidenţă în serul bolnavilor Ac nespecifici cu caracter de F.L. sau F.R. Auto-Ac pentru alte ţesuturi, ca cei găsiţi de Gaydusek (1958) în diverse boli imunologice, nu au fost semnalaţi în boala Takayasu. Natura imună a bolii este astfel incertă. S-ar putea să existe o autostimulare faţă de leziunile arteriale după infecţiile microbiene sau virale care determină Ac crossreactanţi pentru structurile antigenice arteriale sau pentru complexele imune, ipoteze ce trebuie dovedite.

Evoluţia este gravă ; bolnavii mor prin insuficienţă cardiacă, coronariană sau cerebrală, după o evoluţie de cîţiva ani.

Tratamentul cu cortizon asociat sau nu cu anticoagulante dă rezultate contestate. Este posibilă o influenţare a evoluţiei în prima perioadă încă de activitate sistemică. În perioada de sechele sclerozante orice tratament este ineficace, de aceea se recomandă exereza şi grefa pentru anumite artere ca cele renale, în caz de hipertensiune nefrogenă, prin scleroza predominantă a acestor artere.



Scanned with OKEN Scanner

E. DERMATOMIOZITA

ŞT. ŞUŢEANU şi M. MOANGĂ

Dermatomiozita (DM) sau polimiozita este o colagenoză majoră, relativ rar întîlnită (cea mai rară dintre colagenozele majore), caracterizată clinic prin erupţie cutanată, dureri şi slăbiciune musculară intensă. Sub numele de polimiozită se grupează în mod obişnuit cazurile în care leziunile cutanate sînt absente sau prea puţin manifeste (40%) şi sub numele de DM cazurile în care leziunile sînt manifeste (evidente) sau au constituit primele manifestări ale afecţiunii (60%) (Braun, 1971).

Etiopatogenia este necunoscută. Deşi au fost comunicate cazuri de îmbolnăviri la surori, frate şi soră, o predispoziţie ereditară sau un caracter familial al bolii nu pot fi susţinute (Rodnan, 1963). Starea febrilă, uneori de tip sedtic, ca şi aspectul inflamator al leziunilor au condus pe diverşi autori la incriminarea agenţilor infecţioşi drept cauză a DM, fapt care nu a putut fi demonstrat în mod concluziv. S-a incriminat instalarea unei stări de sensibilizare care ar putea fi produsă şi de agenţi fizici (declanşarea DM după expunere la soare, sediul manifestărilor cutanate fiind pe părţile descoperite) sau chimici, manifestările DM apărînd după administrarea de penicilină sau sulfonamidă (Prunieras şi colab., 1972). Dermatomiozita este încadrată în bolile de colagen produse prin dereglarea proceselor imune : mecanismul precis şi procesele care iniţiază cortegiul simptomatologic sînt încă discutate şi numai ipotetice. Frecvent se observă asocierea DM cu alte colagenoze (lupus eritematos diseminat), cu afecţiuni în care sînt implicate procese imunologice, cu neoplasmul visceral cu localizare variată sau cu afecţiuni ale sistemului reticulo-histiocitar (SRH) (limfoame, timoame) (D'Angelo şi colab., 1969). Posibilitatea transformărilor unei afecţiuni în alta foarte înrudită (Merklen şi colab., 1972), ca şi unele observaţii de asocieri multiple de semne şi simptome din DM, sclerodermie şi LED în grade variate, cu prezenţa unui anticorp specific în ser faţă de un antigen nuclear extractibil şi cu separarea unui sindrom nou complex (boala mixtă a ţesutului conjunctiv) (Sharp şi colab., 1972) sugerează tot mai mult că aceste afecţiuni de colagen fac parte din aceeaşi familie şi au un mecanism imunopatologic comun. La argumentele clinice se adaugă cele serologice hipergammaglobulinemia, prezenţa celulelor LE, anticorpi anti-ADN, anticorpi antifactor nuclear (AFN), factorii reumatoizi prezenţi în proporţie pînă la 50%, anticorpi antimiozină (Caspary şi colab., 1954), anticorpi faţă de antigene tumorale (în dermatomiozita asociată cu neoplasm), scăderea complementului (Pearson, 1965). Asemănarea leziunilor cutanate din cele două afecţiuni (DM şi LED) la examenul microscopic, cu elementul comun reprezentat de infiltraţia predominant limfocitară şi de necroza fibrinoidă în pereţii arteriolelor şi în substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv, ca şi indicatorul ultrastructural comun celor două afecţiuni (prezenţa incluziunilor) permit şi justifică considerarea DM printre afecţiunile cu patogenie autoimună. Răspunsul

terapeutic favorabil, la medicaţia cortizonică şi imunosupresivă vine să completeze seria argumentelor indirecte pentru o patogenie autoimună comună în grupa bolilor de colagen. În favoarea concepţiei imunologice s-a încercat realizarea unor modele experimentale prin injectarea la şobolani a unui ser antimuşchi şi s-au obţinut leziuni musculare asemănătoare celor din polimiozită umană (Pagel şi Treip, 1955). Interesarea musculară în DM mimează pe cea a „miozitei", care a putut fi reprodusă experimental la iepuri prin injectarea de antiser eterolog faţă de muşchiul de iepure; acest fapt reprezintă încă un argument pentru implicarea unor procese de hipersensibilitate de tip II întreţinută de procese de tip III (complexe antigen — anticorp). Leziunile observate în dermatomiozită şi polimiozită (PM) evocă o reacţie imună mediată de celule. Currie (citat de Moulias, 1972) nu a observat o relaţie între DM şi titrul de anticorpi-antimuşchi, dar a observat o corelaţie cu transformarea blastică a limfocitelor în prezenţa muşchiului fetal, ca şi toxicitatea lor pentru culturile din ţesutul muscular fetal. Moulias şi Goust (1972) au observat inhibiţia migraţiei leucocitelor în prezenţa muşchiului animal şi uman la toate cazurile testate. Factorul declanşant al reacţiei autoimune ar putea să fie o infecţie virală, îndeosebi un mixo- sau picornavirus (Chou, 1967). Semnificaţia ca şi mecanismul intervenţiei acestor incluziuni de tip viral au fost interpretate diferit. Astfel, Sincovics (1971) presupune că aceste incluziuni: 1) ar reprezenta un virus defectiv; 2) ar fi lanţuri de ribonucleoproteine ale unui virus pasager, întîlnit frecvent la indivizii depresaţi imunologic; 3) ar reprezenta o relaţie virus-celulară de curînd recunoscută; 4) ar reprezenta o parte din reticulul endoplasmic neted, deşi asemenea structuri nu au fost găsite în ţesuturile normale. Indiferent de natura lor, virală sau endogenă, incluziunile pot codifica sinteza de neoantigene în celulele parenchimale sau pot produce supresia unor funcţii imunologice ale celulelor limfoide şi reticulare (Grumet şi colab., 1971). O susceptibilitate genetică poate favoriza o contaminare virală fie prin toleranţa încrucişată faţă de antigene comune, fie prin prezenţa unui situs receptor specific pentru un virus pe membrana unei celule sau pe acizii săi nucleici (Moulias şi Goust, 1972). Concordanţa dintre frecvenţa depistării mixopara-mixopicornavirusurilor şi prezenţa anticorpilor antinucleari la bolnavii cu colagenoze majore (lupus eritematos diseminat, DM, sclerodermie) găsită de Helder (1971) este credem încă un argument care ar pleda pentru intervenţia acestor incluziuni în dereglarea homeostaziei imune din aceste afecţiuni.

Dermatomiozita şi cancerul. Incidenţa generală a tumorilor maligne în DM este de 15—20%. Incidenţa unui neoplasm în cursul DM creşte cu vîrsta; după 50 de ani incidenţa este de 70% la bărbaţi şi 21% la femei. În ordinea frecvenţei, se pare că neoplasmul de stomac la bărbat şi de mamelă la femeie ar fi pe primele locuri, urmate de neoplasmul pulmonar, ovarian şi de bolile sistemului reticular.

Simptome clinice. Nevin (1964) descrie 3 forme clinice: acută, subacută şi cronică, afirmînd că fiecare caz are propriul său tablou clinic. El izolează 3 sindroame clinice, care se asociază în proporţie variată la fiecare caz (sindrom cutaneo-mucos, sindrom muscular, sindrom general). Braun (1971) descrie 4 sindroame clinice, la care se adaugă manifestările

Scanned with OKEN Scanner

viscerale (pulmonare şi cardiace), prezente în proporţie variabilă, dar frecvent mascate de simptomatologia musculo-cutanată.

1) *Sindromul muscular* este precoce, revelator în aproximativ 50% din cazuri; el constituie criteriul fundamental în stabilirea diagnosticului; foarte rar apare mai tîrziu. Astenia musculară este semnul cel mai constant al DM sistemice; ea are distribuţie rizomelică, interesînd iniţial centura pelviană şi ulterior centura scapulară. Durerea musculară, spontană sau provocată, este rareori absentă şi se pare că este o caracteristică fundamentală a procesului miozitic în general. Modificările consistenţei musculare variază cu stadiul bolii (acut, subacut sau cronic); şi ele trec succesiv de la edem la scleroză, iar palpatoriu de la tumefacţie la induraţie şi retracţie. Nici un muşchi striat nu scapă procesului miozitic (Braun, 1971). Disfagia, simptom foarte frecvent (2/3 din cazuri), este evocatoare şi de mare folos în fondarea diagnosticului. Tulburările de deglutiţie şi disfonia laringiană semnează gravitatea cazului. Dispneea sine materia şi tahicardia sînt semnele care indică interesarea plămînului şi respectiv a cordului.

2) *Calcinoza* părţilor moi (în ţesutul subcutanat, aponevroza, tendoane şi muşchi) este ades întîlnită, dar cu o frecvenţă mai mică decît în sclerodermie. Calcificările apar în stadiu mai avansat al bolii şi mai ales la copii.

3) *Sindromul cutaneo-mucos* este determinat de asocierea diverselor forme de eriteme şi edeme, de existenţa chiar fugace a unor exanteme şi care mai mult sau mai puţin exprimat (sindromul cutaneo-mucos) nu lipseşte niciodată, atrage atenţia în mod deosebit; existenţa *placardelor* eritematoase roz-violacee, cu margini netede asociate cu senzaţie de usturime, cu topografia oarecum caracteristică, situîndu-se mai ales pe faţă, înconjurînd pleoapele, pometii sau chiar toată faţa, în afara regiunii peribucale. În formele cronice, manifestările sindromului cutanat iau aspectul unui eritem pigmentar, la care se asociază uneori telangiectazii.

4) *Sindromul articular.* Manifestările articulare sînt înglobate sub numele de reumatism polimiozitic. Sînt afectate mai ales articulaţiile interfalangiene, metacarpofalangiene, radiocarpiene, uneori însă pot fi afectate gleznele şi genunchii. Ca în toate colagenozele majore, în dermatomiozită se pot întîlni (Braun, 1971) forme poliartralgice pure, monoartrite sau poliartrite acute sau subacute, monoartrite şi poliartrite cronice. Incidenţa sindromului articular este apreciat pînă la 47% (Pearson, 1965); poliartritele acute sînt mai frecvente decît poliartritele cronice.

5) *Sindromul general.* Febra cu caracter pseudoinfecţios, constantă în formele acute, devine moderată pe parcurs, pe măsură ce boala evoluează, fiind în cele din urmă înlocuită de o stare subfebrilă, care poate persista mult timp. Astenia generală este întîlnită mai ales în formele cronice. Anorexia este printre simptomele obişnuite, ca şi slăbirea care uneori poate fi foarte accentuată, realizînd forme caracteristice (Coste, 1968).

6) *Manifestările viscerale.* Interesarea cardiacă, exteriorizată clinic prin tahicardie şi electrocardiografic prin tulburări de repolarizare, scăderea voltajului, devierea axei la stînga, tulburări de conducere intraventriculară şi mai ales auriculoventriculare sînt întîlnite aproximativ în 30% din cazuri. Afectarea plămînului nu este rară, dar se pare că singura manifestare clinică în primele stadii este o dispnee sine materia.

Scanned with OKEN Scanner

Pearson (1965) afirmă că boala se manifestă clinic cel puţin sub şase forme : 1) polimiozita tipică în care interesarea musculară este pronunţată şi manifestările cutanate sînt absente ; 2) dermatomiozita tipică în care sînt lezaţi atît muşchii, cît şi pielea în măsură egală ; 3) dermatomiozita asociată cu un neoplasm ; 4) dermatomiozita copilului cu unele particularităţi clinice distincte ; 5) mioliza acută (ca o formă de polimiozită cu evoluţie rapidă) ; 6) polimiozita asociată cu sindrom Sjögren.

Diagnosticul pozitiv al DM presupune prezenţa sindromului clinic muscular sau musculo-cutanat asociat sindromului biochimic al suferinţei musculare (hipercreatinemia, hipercreatinuria sau creşterea enzimelor stocate normal în muşchi), obiectivat prin alterări ale traseului electromiografic şi examenul histologic (la microscopul obişnuit şi la microscopul electronic) al fragmentului muscular.

Examen de laborator. În DM ca şi în alte colagenoze majore, în special în formele acute ale bolii se întîlneşte un sindrom inflamator biochimic nespecific. Astfel, o leucocitoză cu neutrofilie (10 000 — 15 000 leucocite/mm^3) ; în aproximativ 25% din cazuri se observă o eozinofilie şi limfopenie relativă ; anemia poate fi uneori marcată ; creşterea VSH, variabilă ca intensitate, este totuşi constantă şi pare proporţională cu gradul de evolutivitate a bolii, valorile peste 60 mm/oră se găsesc în formele severe şi progresive ale bolii. Electroforeza este modificată în mod constant : albuminele sînt scăzute, globulinele sînt crescute la majoritatea bolnavilor. Testele imunologice sînt mai puţin caracteristice. Complementul seric este scăzut. Testele enzimatice prezintă modificări relativ importante, semnificativă fiind creşterea transaminazelor (TGO), a aldolazelor şi în special a fosfocreatinkinazei, enzime care îşi au sediul normal în muşchi şi sînt eliberate în urma leziunilor distructive ale fibrelor musculare, nivelul lor seric reflectînd intensitatea procesului patologic. Celulele LE se găsesc într-un procent redus de cazuri obişnuit în 5—10%. Factorii reumatoizi se găsesc de obicei la titruri joase şi în procente care au variat în funcţie de forma clinică a bolii şi de metoda folosită. Astfel, cu ajutorul testului latex, Pearson (1959) îi găseşte pozitivi la 50% din bolnavii cu dermatomiozită, pe cînd Barwich şi Walton (1963) îi găseşte prezenţi la mai puţin de 10% din bolnavi. Anticorpii ADN prezenţi la aproximativ 6% din bolnavi, Gaspary (1964) găseşte anticorpi AM în serul a 12 din 25 de pacienţi cu polimiozite. În acelaşi studiu s-a găsit o incidenţă crescută a imunoconglutininei în serul pacienţilor. Anticorpii antinucleari (Seligman, 1965) se găsesc în DM într-un procent mai redus de cazuri decît în alte colagenoze majore (lupus eritematos diseminat, sclerodermie) şi de obicei la titruri joase. Anticorpi faţă de un Ag nuclear extractibil (Sharp şi colab., 1972) sînt prezenţi mai ales în formele asociate cu lupus eritematos diseminat şi sclerodermie. Anticorpi faţă de Ag tumorale (Turk, 1971) sînt prezenţi în procente variabile mai ales cu metoda folosită şi mai puţin cu natura neoplaziei. Scăderea fierului seric la 80 — 60 gama %. Hiperlactacidemia care rezultă din catabolismul crescut al glicogenului muscular există chiar în perioadele de linişte ale DM. Hipercreatinemia ajunge la 1 000 mg/24 de ore (n : 200 — 400 mg). Hipercreatinuria este prezentă în aproape toate cazurile (deoarece musculatura conţine 87% din creatina totală a

organismului este sub 60 mg la individul normal şi poate ajunge la 2 g/zi în DM). Testul de toleranţă la creatină este caracteristic modificat. Dacă la individul normal, din doza de 1,32 mg hidrat de creatină se reţine 70—80%, la bolnavul miozitic această doză de creatină este eliminată ca atare pentru că nu poate fi excretată lent prin urină sub formă de creatinină. Electromiografia arată modificări care sînt de ajutor pentru confirmarea diagnosticului. Trebuie precizat totuşi că nu există deosebiri specifice între aspectele electromiografice în DM şi cele din alte boli de colagen.

Anatomie patologică. Leziunile histologice cutanate cuprind hiperkeratoză uşoară şi uneori atrofii nete (de ex. polikilodermia lui Petges); la nivelul dermului există un edem asociat cu infiltrate celulare mononucleare (mai ales în forma acută) şi cu alterarea fibrelor de colagen. Leziunile histologice musculare au valoare diagnostică sigură; ele asociază, într-o proporţie variabilă, o reacţie celulară inflamatorie cu o degenerescenţă a fibrelor musculare, prezentînd diverse tablouri histologice de la lezarea minimă a fibrelor musculare, cu focare de infiltraţie celulară de dimensiuni reduse, la atingerea periferiei fasciculului muscular, realizînd „miozita vasculară" cu necroza fibrelor musculare, cu infiltraţie celulară difuză printre fibrele degenerate, cu scleroză inflamatorie discretă a muşchiului striat, cu substituirea ţesutului muscular prin ţesutul gras ca ultimă fază.

Examenul microscopic obişnuit se completează de cîţiva ani cu examenul la microscopul electronic, care evidenţiază în proporţie ridicată prezenţa unor incluziuni a căror structură se aseamănă cu mixo-paramixovirusurile situate în endoteliul capilarelor musculare şi cutanate (Chou, 1967), asemănătoare cu cele din boala lupică şi a căror semnificaţie este încă discutabilă.

Tratament. Procentul de remisiuni terapeutice şi spontane este foarte ridicat în primele şase luni de boală (Winkelmann şi colab., 1968). Pînă în anul 1950 s-au folosit o seamă de medicamente a căror eficacitate este greu de apreciat în prezent şi care acum se recomandă doar ca terapie adjuvantă (vitamina E, testosteron, EDTA, ulei iodat, lipiodol 40%, tiroxină). A urmat perioada instituirii corticoterapiei (Amyot şi Vasquez, 1955). Se recomandă doze de 60—90 mg/zi prednison sau cantitate echivalentă pentru perioade variate după caz. În general, după aproximativ patru săptămîni, sindromul enzimatic seric se ameliorează. Rose şi Walton (1966) apreciază că durata medie a tratamentului de întreţinere este de 2—3 ani, cu doze medii de 5—15 mg/zi. Cazurile care s-au dovedit rezistente la tratamentul cortizonic au răspuns uneori la terapia cu metotrexat (Malaviya şi colab., 1968) sau la globulina antilimfocitară (Herreman şi colab., 1972). Pentru formele cronice (Coste, 1968), precum şi pentru cele care prezintă leziuni sclerodermice asociate se recomandă medicaţia care să crească supleţea tegumentelor şi a ţesuturilor subcutanate. Au fost folosite uleiurile nesaponificabile de soia (Lamberton, 1970). În prezent se încearcă D-penicilamina, agent reductor, care scade sinteza de colagen în granulomul subcutanat indus al şobolanilor, creşte cantitatea de colagen solubil în piele şi scade cantitatea de colagen insolubil.

Scanned with OKEN Scanner

F. SCLERODERMIA DIFUZĂ

ŞT. ŞUŢEANU şi M. MOANGĂ

Sclerodermia difuză (SD), denumită şi scleroza sistemică progresivă, este o colagenoză majoră caracterizată prin inflamaţie, fibroză şi atrofie progresivă a pielii, în special la faţă şi extremităţi şi prin interesarea în diverse grade a sinovialei şi a unor organe interne. Este o afecţiune rară, care predomină la femei (3/1), afectînd mai ales persoanele între 30 şi 50 de ani.

Diagnosticul se bazează în primul rînd pe examenul clinic, bolnavii acuzînd mai ales senzaţia de constricţie generalizată a tegumentelor membrelor, precum şi pe prezenţa fenomenului Raynaud. Investigaţiile morfologice evidenţiază dispariţia vaselor din derm, creşterea fibrelor de colagen, fragmentarea fibrelor elastice şi subţierea epidermului.

Simptomatologia clinică. Început insidios, mai des sub forma sindromului Raynaud (în 47,6% din 727 de bolnavi studiaţi de Tuffannelli şi Winkelmann, 1961), care poate preceda cu luni sau ani determinările cutanate ; numai în 1/3 din cazuri boala începe cu modificări caracteristice ale tegumentelor. Destul de des, debutul este articular, ducînd la confuzia cu diverse forme de reumatism. Bolnavii prezintă de asemenea o stare subfrebrilă, inapetenţă, astenie. Mai rar boala poate debuta prin interesarea unui organ visceral (plămîn, aparat digestiv, cord). Modificările pielii caracteristice bolii se produc în primul rînd la nivelul feţei, gîtului şi membrelor superioare (mai ales distal), evoluînd în 3 stadii :

a) tegumentele sînt edematiate, infiltrate, cu ştergerea pliurilor, au un aspect pufos, palid gălbui ;

b) tegumentele devin tot mai dure, mai puţin elastice, mai ales în regiunea dorsală a mîinilor ; pielea nu poate fi prinsă (ciupită) ; mişcările devin mai dificile la extremităţi, iar faţa prezintă aspectul de mască, lipsită de mimică („icoane bizantine") ; prin indurarea tegumentelor feţei este împiedicată deschiderea gurii ; la nivelul tegumentelor pot fi remarcate şi tulburări pigmentare, observîndu-se zone depigmentate, care alternează cu altele hiperpigmentate (Boyle, 1971) ;

c) în SD avansată predomină atrofia tegumentelor, care se subţiază, devin lucioase (aspectul de pergament) şi aderă strîns la ţesuturile subiacente.

Modificările cutanate limitează foarte mult mişcările articulare. La nivelul extremităţii degetelor se produc ulceraţii şi, uneori, depozite de săruri de calciu.

Manifestările articulare sînt prezente : ca redoare izolată, fără dureri sau manifestări inflamatorii, fiind doar expresia localizată la articulaţii a retracţiei cutanate ; ca artralgii inaugurale sau concomitente cu alte manifestări ale bolii (leziuni cutanate, tulburări vasomotorii, cu tot cortegiul lor biologic) ; ca artrite acute, subacute sau ca poliartrită cronică (Saporta, 1968).

Scanned with OKEN Scanner

Manifestările digestive pot rămîne izolate sau pot apărea tardiv în cursul evoluţiei bolii. Manifestările esofagiene (disfagie, senzaţii de arsură şi regurgitaţie, uneori dureri retrosternale) pot preceda manifestările cutanate sau pot apărea într-un stadiu tardiv şi să determine vărsături frecvente şi care nu cedează la terapia obişnuită. Semnele radiologice confirmă tulburările de cinetică esofagiană şi tulburările de calibru ale esofagului inferior. Interesarea stomacului este inconstantă; numai radiologia arată o întîrziere în evacuare, cu lichid de stază şi fără stenoză. Participarea intestinului subţire se apreciază la 57% din cazuri, din care 50% sînt clinic mute şi impun un examen radiologic sistematic (Bluestone şi colab., 1969). Manifestările intestinale pot îmbrăca mai multe forme (sindrom ocluziv cu ilieusuri repetate, sindrom Koenig sau diaree prelungită). Tubajul jejunal protejat evidenţiază la rîndul său dismicrobismul, care se dezvoltă consecutiv tulburărilor de cinetică şi care accentuează sindromul de malabsorbţie. Malabsorbţia se datorează mai multor factori: reducerii fluxului sanguin arterial, obstrucţiei limfatice, afectării peretelui intestinal de către procesul de scleroză, alterării motilităţii intestinale cu proliferarea bacteriană secundară în intestinul subţire. Cu toate că Tuffanelli şi Winkelmann găsesc doar în 8 cazuri (din 727) o afectare a ficatului apreciază că ea trebuie căutată şi descriu în patru cazuri cu SD şi afectare hepatică severă de origine autoimună.

Manifestări respiratorii: la început o dispnee de efort care ulterior apare şi în repaus, cu tuse seacă şi cianoza buzelor (Orabona şi Albano, 1958). Imaginile radiologice îmbracă 3 aspecte: 1) fibroză pulmonară (80—90% dintre subiecţi), predominînd la baze; 2) formaţiuni chistice, variabile ca dimensiuni, întîlnite mai ales la baze, subpleural uneori complicate cu pneumotorax spontan; 3) infiltrate pulmonare localizate, expresia unor suprainfecţii; în ultima perioadă se constată bronşiectazii localizate mai frecvent bazal.

Explorarea funcţională pulmonară evidenţiază un sindrom restrictiv pur de insuficienţă respiratorie (capacitatea vitală şi volumul inspirator moderat scăzut, complianţa statică diminuată datorită îngroşării pereţilor alveolelor pulmonare, cu diminuarea constantă a capacităţii de difuziune pulmonară, care realizează un bloc alveolo-capilar). Prin supraadăugarea factorului infecţios bronşic, asociat cu fibroza peribronhială, se realizează un sindrom de disfuncţie ventilatorie mixtă (Ashba şi Ghanem, 1965).

Sclerodermia şi cancerul pulmonar pot fi asociate, cea mai frecventă formă de cancer fiind cea alveolară.

Manifestările cardiace ale SD (Arnold şi colab., 1971) pot fi: 1) cardiopatia sclerodermică propriu-zisă, produsă prin afectarea primitivă a cordului, consecutivă modificărilor care se produc la nivelul muşchiului cardiac; 2) cardiopatia sclerodermică secundară altor localizări ale sclerodermiei, îndeosebi pulmonare şi renale, care determină fie un aspect de cord pulmonar sclerodermic, fie o insuficienţă ventriculară stîngă, secundară unor nefropatii sclerodermice hipertensive. Se constată anomalii electrocardiografice pînă la 50% din cazuri, dar manifestările clinice sînt mai reduse (15—20% din cazuri). Evoluţia acestei miocardite este deosebit de severă, supravieţuirea nedepăşind 2—3 ani de la apariţia primelor semne.

Interesarea pericardului este anatomic frecventă, realizînd fie o îngroşare fibroasă, dar neconstructivă, fie mai rar o formă exsudativă

Scanned with OKEN Scanner

latentă şi bine tolerată. Endocardul poate fi afectat uneori în sclerodermie, valvulele suferind o transformare fibroasă.

Manifestările renale variază cu stadiul de boală. Afectarea rinichiului se exteriorizează prin proteinurie, cilindrurie (mai ales cilindrii granuloşi), creşterea numărului de hematii/minut, prin hipertensiune cu evoluţie malignă rapidă şi o insuficienţă renală rapidă progresivă spre comă uremică. Explorarea morfologică renală evidenţiază o integritate a tubilor, cu lezarea porţiunii proximale a arterelor interlobulare şi a arteriolelor aferente, consecutivă necrozei fibrinoide. Această discordanţă dintre leziunile anatomice şi probele funcţionale renale s-ar putea explica printr-un spasm pe arteriola aferentă (fenomen Raynaud renal), care ar compensa astfel funcţia glomerulară modificată (Urai şi colab., 1961) de la început prin leziunile vasculare ale bolii de bază.

Etiopatogenia nu este cunoscută ; s-au emis numeroase teorii, dar trebuie recunoscut că nici una dintre ele nu este mulţumitoare (Boyle şi Buchanan, 1971). Se cunosc cazuri în care sclerodermia a debutat brusc după un traumatism psihic (Saporta, 1968), ceea ce ar sugera o patogenie corticoviscerală. Profesiunea a fost incriminată (Rodnan şi colab. 1967), existînd dovezi că SD este mai frecventă printre mineri şi alte profesiuni exercitate în atmosferă cu praf, decît în populaţia generală. De asemenea, s-a incriminat intervenţia factorului predispozant genetic bazat pe o incidenţă mai crescută în unele familii şi pe depistarea la rudele bolnavilor a hipergammaglobulinemiei, fenomenului Raynaud, anticorpilor antinucleari (Rothfield şi Rodnan, 1968) etc. De asemenea, s-a observat existenţa altor boli de colagen (PR, LED), la consangvinii indivizilor cu SD ; alte rude, aparent sănătoase, prezentau hipergammaglobulinemie. Dintre factorii etiologici dobîndiţi este susţinut rolul infecţiilor acute şi cronice, în special streptococice, evidenţiate la un număr mare de bolnavi în perioada dinaintea îmbolnăvirilor sau printre factorii declanşatori ai recidivelor. Aceste observaţii sugerează că în patogenia bolii ar putea fi incriminată intervenţia mecanismelor imunologice.

Existenţa în cursul unor SD a unei crioglobulinemii, a unei anemii hemolitice, a unei tiroidite Hashimoto, a unei ciroze biliare ca şi asocierea cu alte colagenoze majore (PR şi sindromul Sjögren), precum şi separarea unui sindrom nou, boala mixtă a ţesutului conjunctiv (Sharp şi colab., 1972) în care se găsesc asociate manifestări ale bolii lupice, ale dermatomiozitei şi ale sclerodermiei sînt fapte care ar pleda în favoarea unor perturbări ale mecanismelor imune în SD. Factorul reumatoid a fost găsit în 22—50% din pacienţi cu SD, la titruri de obicei scăzute, fără să se găsească nici o corelaţie între prezenţa FR, artritele sau artralgiile pacienţilor cu sclerodermie. Tuffannelli a injectat la 13 sclerodermici în pielea sănătoasă o suspensie din propriile leucocite : la 5 bolnavi a observat o reacţie puternică, fenomen pe care l-a observat şi la bolnavii cu lupus diseminat ; autorul conchide că ar fi vorba de un conflict imunitar direct, celulele injectate acţionînd împotriva celulelor pielii ca într-o reacţie de „grefă contra gazdă". Un astfel de mecanism pare sugerat şi de unele date experimentale.

Anomaliile serologice sînt întîlnite frecvent ; acesta este cazul apariţiei anticorpilor antinucleari într-o proporţie mare de cazuri, mai crescută decît la toate colagenozele, cu excepţia lupusului eritematos diseminat.

Scanned with OKEN Scanner

Găsirea uneori a incluziunilor de tip mixo-paramixovirus în pielea bolnavilor cu SD este o altă asemănare cu boala lupică. Observaţia existenţei şi în SD a formelor localizate şi generalizate, ca şi posibilitatea virării formei localizate într-o formă generalizată este o caracteristică care apropie mult SD de boala lupică, în care fenomenele imunologice sînt mult mai evidente. O altă asemănare între cele două afecţiuni este furnizată şi de examenul histologic, care evidenţiază leziuni asemănătoare în SD generalizată şi cea localizată. În vederea înţelegerii mecanismelor celulare implicate în patogenia bolii, Winkelstein şi colab. (1972) au efectuat teste cutanate la 16 pacienţi cu SD difuză, folosind 4 antigene capabile să inducă hipersensibilitatea de tip întîrziat. Toţi pacienţii cu SD testaţi au arătat cel puţin un răspuns cutanat pozitiv, indicînd că hipersensibilitatea de tip întîrziat *in vivo* era intactă. Existenţa unor mecanisme intacte ale imunităţii la pacienţii cu SD este sugerată şi de faptul că la toţi cei 16 bolnavi testaţi cutanat, studiul stimulării limfocitelor cu PHA (cap. 6) a arătat o încorporare de timidină tritiată asemănătoare cu grupul de control.

Winkelmann (1971) consideră patogenia SD ca un proces generalizat tipic neinflamator, care nu produce nici modificări însemnate în ţesuturi şi nici alterarea majorităţii testelor de laborator.

Sclerodermia ca boală vasculară. Faptul că fenomenul Raynaud este prezent în 80—100 din cazuri şi că poate precede toate manifestările SD generalizate cu mult timp înainte a ridicat legitima întrebare dacă nu cumva manifestările vasculare şi ale sistemului nervos autonom ar fi de fapt primele manifestări de boală şi dacă nu s-ar putea ca manifestările de tip Raynaud să apară în acelaşi timp în diverse organe determinînd în alterări secundare ischemice în parenchim. S-a sugerat, de asemenea, că anomaliile în metabolismul serotoninei ar putea determina modificări fibroase vasculare, deşi excreţia urinară a acidului 5-hidroxiindolacetic a fost normală sau chiar scăzută. Serotonina produce hipertensiunea pulmonară, scade fluxul renal, contractă vasele pielii, iar injectarea de serotonină în pielea umană produce fibroză. Unii pacienţi cu SD sînt foarte sensibili la acţiunea serotoninei, observaţie care se corelează cu apariţia unor modificări cutanate asemănătoare SD la bolnavi cu tumori carcinoide.

Colagenul în SD. Concentraţia de hidroxiprolină a pielii în SD este normală însă hidroxiprolina în urină este normală sau după unii autori crescută. Proporţia de colagen solubil este anormal de scăzută. Ziff şi colab. (1956) apreciază însă că creşterea excreţiei de hidroxiprolină indică afectarea metabolismului colagenului. După Shuk şi Khrupina (citaţi de Winkelmann, 1971), nivelele sanguine ale acizilor aminaţi (tirozină, fenilanină, treonină, izoleucină) erau crescute mai ales în formele cu prognostic nefavorabil. Deşi excesul de fibrile de colagen evidenţiat la microscopul optic ar sugera o creştere a fibrinogenezei, studiul la microscopul electronic al pielii din SD arată că fibrilele de colagen sînt normale. S-ar putea conchide că colagenul din derm este normal din punct de vedere chimic şi fizic, neexistînd decît studii izolate care afirmă o sinteză alterată sau un catabolism modificat al său în piele.

Polizaharidele din piele. Studiul histochimic al substanţei fundamentale în stadiile precoce ale bolii arată o creştere a fixării hexozei, mucopolizaharidelor şi o captare crescută a fixării sulfului marcat în derm după administrarea intravenoasă. Această observaţie ar pleda pentru o formare

accelerată a mucopolizaharidelor. Holzmann şi colab. (citaţi de Winkelmann, 1971) au găsit valorile hexozaminei urinare crescute la şapte din opt pacienţi. Colagenul din SD conţine mai multă hexozamină decît normal şi nivelele de hexozamină în sînge şi urină sînt ridicate. Rodnan (1963) considera că unele creşteri în sînge ale mucopolizaharidelor s-ar datora unui proces inflamator distructiv generalizat care ar produce depolimerizarea mucopolizaharidelor şi trecerea lor din ţesuturi în sînge.

Diagnosticul de laborator. Studiul alterărilor serologice în sclerodermie şi sclerodermatomiozită a arătat, pe un lot de 419 subiecţi, un VSH normal la o treime, pînă la 40 mm/oră în altă treime şi peste 40 mm/oră în cealaltă treime. Electroforeza proteinelor a fost în general normală la 313 subiecţi din cei 419 investigaţi. Clark şi colab. (1971) au găsit valori uşor crescute ale globulinelor. Nivelul Ig în SD generalizată nu are nici valoare diagnostică, nici prognostică, RBW este rareori pozitiv (5% din 363 bolnavi după Clark, 1971). Celulele LE sînt rar prezente (10%). Complementul seric este normal. Factorii reumatoizi sînt prezenţi în proporţie variabilă (pînă la 50%). Anticorpii antinucleari sînt depistaţi în proporţie variabilă (pînă la 70%). S-au găsit de asemenea crioglobuline serice. Studiile imunohistologice ale leziunilor renale din SD au arătat depozite de fibrinogen, dar nu şi gammaglobuline sau ADN. În concluzie, majoritatea anomaliilor biologice din SD generalizată reflectă gradele de interesare viscerală sau alte procese concomitente, ele nefiind specifice pentru SD şi nici caracteristice (Spencer şi Winkelmann, 1971).

Evoluţia de obicei este cronică, cu perioade de exacerbare şi de remisiune spontană sau terapeutică. Evoluţia este lentă, dar progresivă, ireversibilă. Moartea se produce de obicei după mai mulţi ani printr-o infecţie intercurentă sau prin insuficienţă cardiacă ori renală. Unele forme acute durează numai cîteva luni, în schimb altele, cu evoluţie lentă şi cu visceralizări minime, pot supravieţui 20—30 de ani.

Anatomie patologică. Epidermul este atrofic; se observă un infiltrat inflamator redus cu celule mononucleare situate între fibrele de colagen şi mai ales perivascular. Se observă de asemenea un edem moderat, uneori fibrele de colagen sînt edematiate, alteori se observă o degenerescenţă fibrinoidă a colagenului, proliferare fibroblastică intensă care poate invada glandele sebacee, pereţii vaselor şi foliculii piloşi, ajungînd în unele cazuri la o veritabilă hialinizare a pereţilor alveolari. În muşchi se constată infiltrate limfoide printre fibrele musculare, proliferarea ţesutului conjunctiv cu fragmentarea şi dezorganizarea fibrelor musculare.

Studiile histochimice şi microscopia electronică nu au arătat diferenţe semnificative între pielea din SD şi cea normală. Biopsia sinovială, efectuată în determinările articulare ale bolii, a evidenţiat o sinovită caracterizată prin infiltraţii cu celule mononucleare, distribuite perivascular în perioadele de început, şi fibroză, atrofie şi scleroză vasculară în etapele tardive. La nivelul tubului digestiv se produce atrofierea şi fibrozarea muşchilor netezi, interesînd mai ales treimea inferioară a esofagului, intestinului subţire şi mai rar stomacului. În plămîn există o fibroză interstiţială difuză cu îngroşarea pereţilor alveolari. Miocardul este interesat, prezentînd focare de ţesut conjunctiv care tind să înlocuiască fibrele musculare. Rinichii prezintă infarcte corticale, necroza fibrinoidă a arteriolelor aferente şi îngroşarea membranei bazale glomerulare. Leziunile arterio-

lare sînt similare celor din hipertensiunea malignă, iar leziunile membranei bazale se aseamănă mult cu cele din LED, în SD găsindu-se însă fibrinogen depozitat pe membrana bazală, nu gammaglobuline, şi ADN sau complexe imune (ADN, anticorpi anti ADN, complement).

Tratament. Winkelmann şi colab. (1971) consideră utilă următoarea terapie:

a) *Terapia vasoactivă* are drept scop controlul fenomenului Raynaud şi modificărilor vasculare şi cuprinde agenţii blocanţi β-adrenergici, precum şi medicaţia ce interferează cu metabolismul şi stocarea catecolaminelor. Cele mai bine tolerate sînt: fenoxibenzamina şi tolazolina (30—60 mg/zi, în trei prize), metildoza (1—2 mg/zi) şi rezerpina (1—2 mg/zi). Rezerpina administrată parenteral s-a dovedit activă mai ales în formele de interesare viscerală (Nervin, 1964). Acidul nicotinic şi procaina parenteral au dat uneori rezultate satisfăcătoare. Folosirea simultană a acestor medicamente vasoactive determină efecte mai ample şi riscuri mai reduse (Turk, 1971).

b) *Terapia antiinflamatorie* foloseşte salicilaţi şi antimalarice, cu rezultate variabile. Corticoterapia se recomandă în formele cu manifestări viscerale mai accentuate, precum şi în formele asociate cu alte colagenoze. Se pare că este mai puţin activă asupra manifestărilor cutanate. Imunosupresivele (imuran, melfalan) au dat uneori rezultate (Helder, 1971; Malavya şi colab., 1968).

c) *Terapia experimentală* include paraaminobenzoat de K, acidul ε-aminocaproic, estrogenii, relaxina (extrase din ovarele de scroafă gestată). D-Penicilamina (1 — 2 g/zi), salazopirina (2 — 6 g/zi) au produs uneori ameliorări. Lamberton (1970), cu terapia recomandată de Thiers (uleiuri nesaponificabile de soia şi avocat), a obţinut rezultate favorabile în 80% din cazuri.

d) *Terapia ajutătoare* se adresează manifestărilor cutanate şi impune colaborare cu dermatologul şi balneofizioterapeutul. Manifestările secundare refluxului esofagian se previn prin poziţia ridicată a capului în timpul somnului şi prin medicaţie antiacidă. Procesele de malabsorbţie survenite în fazele tardive sînt controlate de antibioticele cu spectru larg.

G. BOALA MIXTĂ A ŢESUTULUI CONJUNCTIV

ŞT. ŞUŢEANU şi M. MOANGĂ

Boala mixtă a ţesutului conjunctiv (BMTC) este un sindrom reumatic distinct, complex, care grupează manifestări clinico-biologice întîlnite în LE sistemic, SD difuză, progresivă şi dermatopolimiozită, intricate în grade variate. Acest sindrom, izolat recent de Sharp şi colab. (1972), se caracterizează biologic prin prezenţa obligatorie a unui anticorp hemaglutinant, specific faţă de un antigen nuclear extractibil (constituit din proteine şi RNA) şi prin valori normale sau chiar ridicate ale complementului seric. Clinic, sindromul se caracterizează prin lipsa constantă de afectare a funcţiei renale, precum şi printr-un răspuns favorabil la terapia cortizonică.

Scanned with OKEN Scanner

Simptomatologia clinică polimorfă, caracterul ubicvitar al leziunilor din colagenoze, ca şi mecanismele de producere în mare parte asemănătoare, sînt cauze care îngreuiază delimitarea nosologică precisă, uneori separarea exactă fiind imposibilă şi obligînd pe clinician să folosească termeni arbitrari : „colagenopatie complexă", „colagenopatie de graniţă", „sindrom de suprapunere".

Delimitarea acestui sindrom reumatic complex este rezultatul unei observaţii clinice îndelungate şi al unor cercetări de laborator, care au precizat cîteva aspecte. Astfel, specificitatea anticorpilor anti-ENA din BMTC este diferită de cea a anticorpilor anti-DNA din LES, fapt dovedit prin studii de digestie enzimatică (tratarea cu ribonuclează a antigenului ENA de pe eritrocite a eliminat complet sau a redus considerabil reacţia de aglutinare cu serul bolnavilor de boală mixtă a ţesutului conjunctiv, neinfluenţînd aglutinarea serurilor de la bolnavi cu LES). Această specificitate diferită a anticorpilor anti-ENA, ca şi titrurile foarte ridicate ale anticorpilor anti-ENA înregistrate la bolnavi cu boală mixtă a ţesutului conjunctiv, comparativ cu titrurile scăzute ale bolnavilor cu LES pentru acelaşi anticorp, par să diferenţieze cele două afecţiuni.

Incidenţa MBTC, comparativ cu alte boli ale ţesutului conjunctiv, rămîne să fie determinată în serviciile specializate. Sharp, în perioada de urmărire a celor 25 de cazuri cu BMTC, a întîlnit aproximativ 350 de cazuri de LES şi 50 de cazuri de SD difuză.

Dubois şi colab. (1971) au descris 14 cazuri de SD cu manifestări de LES clinic şi cu celule LE prezente. Unii dintre cei 14 bolnavi prezentau în plus manifestări asemănătoare celor din BMTC şi un răspuns favorabil al manifestărilor cutanate sclerodermice la corticoizi în doză ridicată. D'Angelo şi colab. (1969) au observat 10 bolnavi cu SD care prezentau una sau mai multe manifestări ale altor boli ale ţesutului conjunctiv. Asemenea suprapuneri în număr crescînd, ale diverselor colagenoze, ca şi trecerea de la o formă mai simplă la alta mai complexă au observat şi Ciobanu şi Şuţeanu. Pînă la lucrările lui Sharp nu s-a izolat însă un cadru nosologic distinct.

Aspecte clinice. Boala este mai frecventă la femei. Majoritatea bolnavelor (96%) prezentau manifestări articulare mai mult sau mai puţin intense, de la artralgii severe la artrite nete. Examenul atent al mîinilor a arătat tumefierea predominant la degete „cu aspect efilat sau de cîrnat", cu îngroşarea pielii şi pierderea elasticităţii cutanate, rareori cu ulceraţii, modificări necrotice, telangectazice, eritematoase, la nivelul articulaţiilor pumnului şi metacarpofalangiene, similare celor din sclerodermie şi dermatomiozită. Uneori, bolnavele prezentau erupţie violacee ale pleoapelor (ca în dermatomiozită) sau erupţie eritematoasă facială (ca în lupus). Fenomenul Raynaud şi manifestările esofagiene se situează pe locul secund după manifestările articulare, urmate fiind de manifestările de dermatomiozită subiective (dureri musculare, astenie musculară) şi obiective (creşterea enzimelor serice — creatinfosfokinaza şi aldolaza —, precum şi modificări electromiografice). Limfadenopatia a fost prezentă în proporţie ridicată (68%), pretînd uneori la confuzii. Bolnavii au mai prezentat în proporţii variate un sindrom febril prelungit (32%), hepatomegalie (28%), o serozită (24%), splenomegalie (21%). Caracteristică pentru acest sindrom distinct este lipsa afectării renale, clinice şi biologice, la toţi

cei 25 de bolnavi, afirmaţie care trebuie privită cu rezervă, deoarece nu s-au efectuat biopsii renale la nici un bolnav.

Examenul de laborator a evidenţiat o anemie la 12 bolnavi, o leucopenie (sub 5 000/mm³) la 52% din cazuri, o trombocitopenie la 2 bolnavi. Hipergammaglobulinemia a fost prezentă la 80% din bolnavi. Dozările repetate de complement seric au arătat valori normale sau crescute, semn caracteristic pentru definirea sindromului. Probele de explorare a cineticii esofagiene au fost anormale în proporţie de peste 70% din cazuri. Sindromul biochimic de disfuncţie a musculaturii striate a fost prezent în aproximativ 70% din cazuri (valori serice crescute ale creatinfosfokinazei şi aldolazei). Biopsiile cutanate şi electromiografiile efectuate au evidenţiat aspecte de miozite inflamatorii.

Diagnostic pozitiv. Suspiciunea se conturează în faţa unei colagenoze complexe de la început sau ori de cîte ori se suprapun manifestări considerabile ale mai multor colagenoze majore (LES, DM şi SD progresivă). Explorarea biologică furnizează date necaracteristice, în afara prezenţei anticorpului specific faţă de ENA, considerat ca obligator, precum şi valori normale sau crescute ale complementului seric. Răspunsul bun la terapia cortizonică completează caracteristicile diagnostice ale sindromului.

Diagnosticul diferenţial se face cu fiecare din cele 3 afecţiuni asociate din cadrul sindromului.

Evoluţia acestor bolnavi este bună, remisiunile terapeutice variază, uneori impunîndu-se reluarea tratamentului iniţial.

Patogenie. Evoluţia favorabilă a BMTC s-ar putea datora efectului protector al anticorpilor anti-ENA ; bolnavii care prezentau titruri ridicate în ser de anticorpi anti-ENA în prezenţa ADN liber sau a anticorpilor anti-ADN nativ (în proporţie de 50%), nu au prezentat suferinţă renală. Anticorpii anti-ENA au inhibat *in vitro* reacţiile de precipitare şi hemoaglutinare între ADN şi anticorpi anti-ADN fapt care, asociat cu constatarea titrului normal sau crescut al complementului seric la aceşti bolnavi, ar putea explica lipsa afectării renale prin împiedicarea formării complexelor ADN — anti-ADN. Prin injectarea săptămînală de ENA, la şoareci NZV (care dezvoltă spontan o boală autoimună asemănătoare LED uman) s-a observat că afectarea renală a animalelor de experienţă a fost atenuată considerabil, comparativ cu lotul martor.

La constatările lui Sharp şi colab. (1972) se adaugă observaţiile lui Reichlin şi Mattioli (1972), care, la o parte din bolnavi cu LES, au întîlnit un antigen ribonucleoproteinic nuclear solubil, care precipită cu anticorpii precipitanţi existenţi în serurile acelor bolnavi. Reichlin şi Mattioli afirmă că antigenul evidenţiat de ei diferă de cel al lui Sharp (care conţine cel puţin două antigene distincte din punct de vedere serologic şi chimic). Pare aşadar că există o asemănare între pacienţii lui Sharp, care prezintă anticorpi faţă de ENA, şi categoria de bolnavi cu LES descrişi de Reichlin şi Mattioli, care prezintă anticorpi faţă de un antigen ribonucleoproteinic al funcţiei renale neafectate, precum şi al unei evoluţii favorabile în ambele grupe de bolnavi, explicată prin existenţa acestor doi anticorpi protectori.

Anatomie patologică. Se întîlnesc modificări anatomice ale celor trei afecţiuni intricate în grade variate. Astfel, din cei 10 bolnavi la care s-au efectuat biopsii cutaneomusculare, 6 prezentau modificări histologice cutanate de sclerodermie difuză şi ceilalţi aspecte de miozită inflamatorie.

Scanned with OKEN Scanner

Tratament. Bolnavii au răspuns favorabil la terapia cortizonică, atît manifestările cutanate sclerodermice, cît şi cele miozitice au cedat considerabil la doze de 1 mg prednison/kilocorp. De asemenea, au cedat şi celelalte acuze subiective, precum şi manifestările obiective ale bolnavilor. Nu s-au făcut probe de verificare a ameliorării kineticii esofagiene după tratament. Autorii au urmărit acest lot (25 de bolnavi) pe o perioadă de două luni pînă la 8 ani, unii dintre bolnavi impunînd reluarea curelor de corticoterapie.

BIBLIOGRAFIE

Altera K. P., Bonasch H., J. Amer. Vet. Med. Ass., 1966, *149*, 1 307.
Amyot R., Vasquez J., Rev. Neurol., 1955, *93*, 43.
D'Angelo W. A., Fries J. F., Masi A. T., Shulman L. E., Amer. J. Med., 1969, *46*, 428.
Arnold P., Brandt C., Pfrunner G., Fincker L. J., Batzenschlager A., J. méd. de Strasbourgh 1971, *10*, 801.
Ashba N. Y., Ghanem H. M., Dis. Chest., 1965, *47*, 52.
Asherson G. L., Shrire V., Brit. Med. J., 1968, *2*, 589.
Asherson G. L., Broberger O., Brit. Med. J., 1961, *1*, 429.
Backman H., Acta Med. Scand., 1956, *154*, 6, 441.
Baker A., Cidel J., Kaplan M., Gastroenterology, 1971, *60*, 183.
Barwick D. D., Walton S. N., Amer. J. Med., 1963, *35*, 646.
Berceanu Şt., Cuciureanu I., *Consideraţiuni clinice şi histopatologice asupra periarteritei nodoase*, în Soc. med. a spitalelor din Bucureşti, mai 1946 (comunicare).
Berceanu Şt., Popescu I. Gr., Gociu M., *Volumul Omagial al acad. N. Gh. Lupu*, Bucureşti, 1965, Edit. Academiei, p. 577.
Bernard Y., Mathé G., Israel L., Presse méd., 1957, *65*, 33, 751.
Bevan A. T., Dunnill M. S., Harrison M. J. G., Ann. Rheum. Dis., 1968, *27*, 271.
Bluestone R., Mac Mahon M., Dawson M. Y., Gut, 1969, *10*, 185.
Blumberg B. S., Sutnick A. I., London W. T., N. Engl. J. Med., 1970, *283*, 349.
Boyle A. J., Buchanan W. W., în *Chlinical Rheumatology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh, 1971, 484.
Braun S., Rev. Med., 1971, *26*, 689.
Caspary E. A., Gubbay S. S., Stern G. M., Lancet, 1954, 941.
Chou Ming-Shi, Science, 1967, *158*, 453.
Churg J., Strauss L., Amer. J. Path., 1951, *27*, 277.
Clark A. J., Winkelmann K. R., Ward E. L., Mayo Clinic. Proc., 1971, *46*, 104.
Copeman W. S. C., Acta Med. Scand., 1956, 3, *154*, 265.
Coste Fl., în *Progrès en Rheumatologie*, Ed, E. Coste, Editions Médicales, Flammarion, Paris, 1968, 247.
Deicher H. G. R., Holman H. R., Kumkel H. G., J. Exp. Med., 1959, *109*, 97.
Dubois E. L., Chandor S., Trion G. J., Bischel M., Medicine, 1971, *50*, 199.
Dubois E. L., *Lupus Erythematosus*, Mc. Graw Hill, 1966.
Ford R. G., Siekert R. G., Neurology, 1965, *15*, 114.
Goldberger E., Amer. J. Cardiol., 1959, *3*, 656.
Gross L., Am. J. Path., 1940, *16*, 375.
Grumet C. F., Coukell A., Bodmer J. G., Bodmer W. F., Mc Devitt M. O., New Engl. J. Med., 1971, *285*, 193.
Helder L., Lancet, 1971, *II*, 1983.
Herreman G., Broquic G., Metzger P. I., Godeau P., La Nouv. Presse Méd., 1972, *1*, p. 2 035.
Klemperer P., Am. J. Path., 1950, *26*, 505.
Klemperer P., Polack A. D., Bachr G., Arch. Path., 1941, *32*, 569.
Lachmann P. I., Müller-Eberhard H. J., Kunkel H. G., Paronetto F., J. Exp. Med., 1962, *115*, 63.
Lamberton, La Presse Medicale, 1970, *78*, 1, 235.
Lawrence S. H., Valentine F. T., Amer. J. Path., 1970, *60*, 3.

Scanned with OKEN Scanner

Maas D., Schubothe H., Dtsch. Med. Wschr., 1973, *98*, 131.
Malaviya N. A., Many A., Schwartz S. R., Lancet, 1968, *2*, 485.
Marinescu G., Drăgănescu Şt., Ann. Méd., 1927, **22**, *2*, 155.
Mc Cluskey R. T., J. Exp. Med., 1971, **134**, *3*, p. 2, 242.
Mellors R. G., Ortega L. G., Amer. J. Path., 1956, *32*, 455.
Merklen F. P., Schwartz S. R., Lancet, 1968, *2*, 485.
Michael A. F., Westberg N., Fish A. J., Vernier R. L., J. Exp. Med., 1971, *3*, p. 2, 208.
Milgrom F., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, p. I, 118.
Moulias R., Goust Y. M., La Nov. Presse Med., 1972, *1*, p. 399 ; La Rev. du Prat., 1972, XII, p. 2, 281.
Moulias R., Müller-Berat C. N., Presse Med., 1970, **78**, *5*, 225.
Müler H. G., Harwerth K., *Rheumatoid arthrosis*, Academic Press, 1971.
Nervin S., La Rev. du Prat., 1964, XIV, 513.
Neustadt D. H., *Chemistry and therapy of colagen diseases.* Charles Ch. Thomas, Publ., Springfield, Illinois, S.U.A., 1963, 108.
Oldstone M. B. A., Dixon F. J., J. Exp. Med., 1969, *129*, 483.
Orabona M. L., Albano O., Acta. med. scand., 1958, 160, suppl., 333.
Pagel W., Treip C. S., J. Clin. Path., 1955, *8*, 1.
Person C. M., Arthritis Rheum., 1959, *2*, 127 ; Ann. Int. Med., 1963, *59*, 827.
Poskitt T. H. R., Amer. J. Med., 1970, *49*, 250.
Prunieras M., Grupper Gh., Durepoire R., Eidenmann D., Regnier M., La Nov. Presse Méd., 1972, *1*, 133.
Purice S., Gheorghiu M., Ghelerter L., Drăgoi T., Medicină Internă, 1969, 10.
Purice S., Ghelerter L., Matei I., Burnazian G., St. şi cerc. med. int., 1969, *10*, 2.
Reichlin M., Mattioli M., New Engl. J. Med., 1972, *286*, 908.
Rich A., Harney Lect., 1947, *42*, 106.
Rodnan G. P., Bull. Rheum. Dis., 1963, *13*, 301.
Rodnan G. P., Nenedek T. G., Medsgen T. A. Jr., Ann. intern. Med., 1967, *66*, 323.
Rose A., Walton J. N., Brian, 1966, **89**, 747.
Rose G. A., Spencer H., Quart. J. Med., 1957, **26**, 43.
Rotfield N. F., Rodnan G. P., Arth. and Rheum., 1968, *11*, 607.
Ryckewaert A., Presse Med., 1970, **78**, *29*, 1 307.
Saporta L., în *Progrés en Rheumatologie*, ed. F. Coste, Editions Médicales Flammarion, Paris, 1968, p. 215.
Seligmann M., Faber V.. Ann. N. Y. Acad. Med., 1965, *124*, 816.
Sharp C. G., Invin S. W., Tan M. Eng, Gonld G. R., Holman R. H., Amer. J. Med., 1972, *52*, 148.
Shulman L. E., în *Immunological Diseases*, Max Santer (sub red.), Little Brown & Company, Boston, 1971, ed. a 2-a, vol. II, p. 1 029.
Sinkovics Y. G., Lancet, 1971, *284*, 107.
Spencer K. S., Winkelmann K. R., Mayo Clinic. Proc., 1971, *46*, 108.
Strachan R. W., Wigsell F. W., Anderson I. R., Amer. J. Med., 1966, *40*, 560.
Tuffanelli D. L., Winkelmann E. K., Arch. Derm., 1961, *84*, 359.
Turk L. J., în *Immunologie médicale*, sub red. JIH. TURK, Masson et C., Editeurs Paris, 1971, 136.
Urai L., Lunkossi I., Szinay G., Brit. Med. J., 1961, (I), 713.
Wigley R. D., Couchman K. G., Nature, (London), 1966, *211*, 319.
Winkelmann K. R., Mulder W. D., Lambert H. E., Howard F., Diessner R. G., Mayo Clin, Proc., 1968, *43*, 545.
Winkelmann K. R., Mayo Clin. Proc., 1971, *46*, 83.
Winkelstein A., Rodnan P. G., Heilman D. J., Ann. Rheum. Dis., 1972, *31*, 126.
Yang Y. H., Lab. Invest., 1965, *14*, 81.
Zeek P. M., New Eng. J. Med., 1953, *248*, 764.
Ziff M., Kibrick A., Dresner E., et al., J. Clin. Invest., 1956, *35*, 579.

Scanned with OKEN Scanner

14. IMPLICAȚII IMUNOPATOLOGICE ÎN BOLILE PULMONARE

CARMEN RACOVEANU și V. NICOLAESCU

A. ALVEOLITELE ALERGICE

Afecțiunile denumite alveolite alergice cuprind un grup de pneumopatii interstițiale granulomatoase produse prin inhalarea pulberilor organice. Ele apar la persoanele sensibilizate față de antigenele care se găsesc în pulberile respective, de aceea Pepys preferă termenul de „alveolite alergice extrinseci". Efectul pulberilor organice este analog cu cel al proteinelor eterologe : dacă doza inhalată este suficient de mare și persistența în alveole suficient de îndelungată, aproape orice persoană poate fi sensibilizată, în sensul apariției anticorpilor serici precipitanți. Asocierea leziunilor pulmonare și a simptomatologiei clinice demonstrează patogenitatea alergizării la pulberi organice. În ultimii 10 — 15 ani au fost descrise numeroase entități clinice dintre care cele mai cunoscute sînt prezentate sinoptic în tabelul nr. 28.

În afară de acestea au mai fost semnalate : sensibilizarea pulmonară la inhalarea resturilor de trestie putredă, alergiile pulmonare medicamentoase, reacțiile alveolare posttransfuzie sanguină, alveolita fibrozantă a fumătorilor de tutun („blackfat tobacco") cu conținut ridicat în mucegaiuri, plămînul lucrătorilor la cafea, plămînul blănarilor, alveolite alergice la tehnicienii expuși la tuberculoproteine, granulomatoze pulmonare la speologi, pneumopatii alergice la funcționari, apărute în urma contaminării cu actinomicete a sistemului de aer condiționat, alveolite cu precipitine față de aspergilus, și alte entități a căror denumire este dată de regulă de pulberea inhalată. În cazul reacțiilor pottransfuzionale sau sensibilizării la medicamente (nitrofuran, PAS, hipotensoare), deși pătrunderea alergenilor se face pe cale sanguină, plămînul este însă organul de șoc.

Aspectul clinico-radiologic, tipul leziunii și răsunetul funcțional al alveolitelor alergice sînt asemănătoare.

Plămînul fermierilor este afecțiunea datorată inhalării prafului de fîn sau a produselor vegetale mucegăite și se caracterizează prin simptome și semne rezultate din o reacție care are loc în partea periferică a sistemului bronhopulmonar, determinînd apariția unui defect în transferul alveolocapilar al gazelor respiratorii.

Etiologie. Prevalența afecțiunii este ridicată în țările cu veri umede și reci din nord-vestul Europei și în Statele Unite, țări în care este considerată boală profesională.

Fînul mucegăit conține un mare număr de substanțe potențial antigenice pentru om, astfel încît simpla prezență a precipitinelor serice nu permite să se stabilească cu certitudine relația cauzală cu afecțiunea pulmo-

Tabelul nr. 28

Clasificarea alveolitelor alergice

Afecţiunea	Sursa de pulbere	Antigenul
Plămînul fermierilor „ treierătorilor Boala manipulanţilor de cereale	fîn mucegăit, cereale, furaje umede	*Micropolyspora faeni*
Plămînul amatorului de păsări Plămînul crescătorului de porumbei	pene şi exrcemente de păsări	proteine serice aviare
Sequoioza	mucegai de sequoia	*Graphium*; *Ameriobasidium pullulous*
Suberoza	praf de spută mucegăită	*Actinomycetis* idem + termofilie
Plămînul cultivatorilor de ciuperci	gunoiul pe care se cultivă ciuperci	*Micetomonospora vulgaris*
Plămînul cojitorilor de arţar	coji mucegăite de arţar	*Cortiostroneo corticale*
Plămînul lucrătorilor la malţ	malţ mucegăit	*Aspergillus funigatus* *Aspergillus clavatus*
Plămînul despicătorilor de paprika	ardei uscaţi mucegăiţi	*Aspergillus?*
Plămînul lucrătorilor de brînzeturi	„poudre de bleu"	*Penicilline casei*
Alveolita datorită gărgăriţei grîului	cereale parazitate	*Sitophilus graharius*
Alveolite prin enzime	pulbere de detergent cu enzime	enzime ale *B. subtilis*
Alveolite iatrogene	pulbere de hipofiză	proteine de porc şi bou hormoni hipofizari

nară. Testele serologice, cercetările experimentale şi mai ales reproducerea sindromului la om prin inhalarea diferiţilor alergeni au permis incriminarea în etiologia bolii a unei actinomicete termofile: *Micropolyspora faeni Thermopolypora polyspora*), care poate fi extrasă din fînul mucegăit Crofton şi Douglas, 1969). Fracţiunile antigenice par a fi glicoproteine făcînd parte din membrana micropolisporei; partea polizaharidică conţine galactoză, arabinoză şi glucozamină. Fracţiunile precipită în contact cu serul bolnavilor şi reproduc boala dacă sînt inhalate (Pepys, 1971). Fînul mucegăit conţine pînă la 250 000 spori/g (uscat), astfel încît plămînul unui fermier care lucrează într-un grajd cu fîn infestat poate reţine pînă la 750 000 spori/min. Diametrul mic al sporilor (sub 1 μ) permite pătrunderea or în bronşiolele terminale şi în alveole, unde persistă vreme îndelungată. Este posibil ca rezistenţa sporilor la enzimele macrofagelor alveolare să

permită persistenţa formelor viabile, care contribuie la declanşarea reacţiilor imunologice caracteristice bolii.

Patogenie. Lipsa evidenţei histologice a proliferării intrapulmonare a fungilor, ca şi tipul leziunii sugerează intervenţia proceselor imunologice. Pepys (1971) consideră că alveolitele alergice sînt datorate unei reacţii de tip 3 (Arthus), mediată de precipitine, ipoteză în favoarea căreia pledează : *1*, afecţiunea apare numai la persoanele care au mai fost în contact cu cereale mucegăite şi sînt sensibilizate ; *2*, intervalul de 4 — 14 ore între inhalarea alergenului şi debutul bolii ; *3*, prezenţa anticorpilor serici precipitanţi ; *4*, existenţa excesului local de antigene, uşor explicabil prin cantitatea mare de praf care pătrunde în alveolă ; *5*, prezenţa leziunilor din peretele bronşic, care sugerează intervenţia unei componente vehiculată de aer (alergen) şi *6*, prezenţa leziunilor vasculare care pledează pentru existenţa unei componente vehiculată de sînge (anticorpi precipitanţi) care declanşează reacţia.

Totuşi, caracterul necrotic al angeitei, specific fenomenului Arthus, lipseşte de regulă în plămînul fermierilor. Pe de altă parte, studii de imunofluorescenţă au semnalat prezenţa antigenului polizaharidic şi a imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM în concentraţii mari în epiteliul bronşic, în exsudatul alveolar şi între macrofagele care participă la reacţia granulomatoasă. S-a observat, de asemenea, că în histiocitele din septurile alveolare era fixată fracţiunea C_3 a complementului, sugerînd prezenţa prealabilă a complexelor antigen — anticorp. Pare deci probabil că alveolitele alergice sînt datorate, cel puţin în parte, unei reacţii de tip II, citotoxică, în care absorbţia unui antigen pe suprafaţa celulelor le face temporar susceptibile la acţiunea anticorpilor citotoxici şi a complementului. Natura polizaharidică a antigenilor fungici, asemănătoare celor bacteriene, face ipoteza fixării pasive pe celule mai plauzibilă. Reacţia complexului celulă + antigen cu anticorpii poate duce, în prezenţa complementului, la liza celulară sau la organizarea leziunii.

Existenţa granuloamelor epiteloide ridică ipoteza participării unei componente de reacţie tardivă (tip IV) ; frecvenţa celulelor gigante de corp străin sugerează posibilitatea intervenţiei şi a unui răspuns nealergic iritativ. Dealtfel, experimental, maladia nu a putut fi reprodusă numai prin inhalarea actinomicetelor, în timp ce atît inhalarea prafului de fîn, cît şi a amestecului praf de fîn + *Micropolyspora* determină (la cobai) apariţia granuloamelor interstiţiale, urmate de fibroză inter- şi intraalveolară. Pare deci probabil ca în patogenia bolii să intervină nu numai fungii, ci şi fracţiuni antigenice glicoproteice sau polizaharidice din praful de fîn care pătrund în alveole împreună cu sporii.

Afecţiunea a fost reprodusă experimental prin inhalarea alergenelor la animale hiperimunizate, folosindu-se expunerea cronică la antigene complexe cu imunogenicitate particulară.

Patologie. În faza acută se observă noduli miliari de consistenţă fermă, cu centru cenuşiu, cîteodată cu zone hemoragice în jur şi colaps bronşiolar secundar. Microscopic, leziunea caracteristică constă în granuloame asemănătoare celor sarcoidozice diseminate în interstiţiul pulmonar. Ele sînt constituite din proliferări ale celulelor epiteliale alveolare şi infiltrate cu celule rotunde şi epitelioide care formează tuberculi prost

delimitaţi. Este de remarcat absenţa polimorfonuclearelor şi a cazeificării ; cîteodată se observă focare de necroză bogate în lipide. Granuloamele nu conţin germeni sau fungi, ci doar mici particule brune PAS-pozitive care rezultă din digestia incompletă în lizosomii fagocitelor. În 50 — 70% din cazuri se observă celule de corp străin care conţin material birefringent, a cărui origine şi semnificaţie nu sînt încă elucidate. Nodulii pot fi înconjuraţi de o capsulă fină de colagen ; dealtfel, fibrele de colagen şi reticulină sînt în număr relativ mare şi formează pachete în septul alveolar.

Infiltratul interstiţial precoce este constituit din mononucleare mari de tip histiocitic, în timp ce infiltratul cu celule mici rotunde se observă în stadiile tardive şi pare a fi asociat cu instalarea fibrozei. Caracterul rapid tranzitor al modificărilor radiologice sugerează iniţial că în interstiţiul pulmonar predomină edemul şi abia ulterior se organizează granuloamele.

În faza cronică, plămînii prezintă zone de fibroză interstiţială şi peribronşică care formează uneori mase compacte. Se asociază leziuni secundare, chisturi cu diametrul între 1 mm şi cîţiva centimetri, încercuite de benzi de colagen care apar în zonele de fibroză, realizînd aspectul de „plămîn în fagure". Tot în zonele de fibroză se pot observa cavităţi cu pereţi subţiri care comunică cu bronşiola terminală (emfizem pericicatricial). Leziunile predomină în lobii superiori şi determină tracţionarea hilurilor şi a mediastinului.

Clinică. Sindromul acut apare la 4—14 ore după inhalarea antigenului şi se caracterizează prin semne generale : astenie, cefalee, frisoane, transpiraţie, mialgii, febră, tulburări digestive, la care se asociază dispnee intensă, rapid progresivă, cu caracter inspirator. Tusea este seacă, obositoare, însoţită de dureri retrosternale, rareori productivă, cu expectoraţie mucoasă redusă, cîteodată striată cu sînge sau hemoptoică. Bolnavul este tahicardic, tahipneic, în cazurile severe cianotic ; la ascultaţie se aud raluri crepitante fine, diseminate, fără a fi însoţite de semne de condensare pulmonară. Dacă se evită expunerea ulterioară, simptomele dispar în 7—10 zile, dar dispneea, astenia şi pierderea ponderală pot persista cîteva luni.

Deseori, episodul acut trece neobservat, bolnavii avînd doar simptome minore. Alteori, evoluţia se face prin episoade acute recurente. De obicei însă, expunerea cronică duce la instalarea fibrozei interstiţiale şi a leziunilor peribronşice ireversibile, în această fază simptomele confundîndu-se cu cele ale bronşitei cronice şi fibrozei pulmonare.

Radiologie. Imaginea variază în funcţie de durata şi severitatea bolii. În faza acută se observă accentuarea desenului interstiţial, care devine reticular şi prezintă opacităţi fine, miliare, deseminate, mai accentuate la baze. Cîteodată, aspectul este granular, alteori apar infiltrate mari fugace. Imaginile dispar rapid după întreruperea expunerii la alergen. În formele subacute sau recidivante se observă infiltrate nodulare bilaterale care pot persista cîteva luni.

În forma cronică, aspectul radiologic se diferenţiază greu de celelalte tipuri de fibroze ; se observă aspecte de miliară cronică, fibroză interstiţială, imagine reticulară cu ochiuri dese, plămîn în fagure, la care se asociază grade variate de scleroză retractilă şi emfizem.

Examene de laborator. În faza acută apare leucocitoză cu neutrofilie şi creşterea tranzitorie a eozinofilelor ; concentraţia hemoglobinei şi VSH

Scanned with OKEN Scanner

sînt normale. La o parte din bolnavi cresc şi mai frecvent globulinele cu predominanţa fracţiunii 7S.

Dubla difuziune în gel de agar pune în evidenţă prezenţa anticorpilor precipitanţi, care se găsesc în faza acută în serul a peste 80% din blonavi, dar şi la circa 19% dintre persoanele asimptomatice, dar expuse la antigen (Pepys, 1971). Titrurile sînt mai ridicate faţă de antigenii din micropolyspora decît faţă de praful de fîn (Crofton şi Douglas, 1969). Incidenţa testelor serologice pozitive este maximă imediat după expunere. Anticorpii se găsesc în fracţiunea 7S.

Fiziopatologie. Alveolitele alergice produc disfuncţie ventilatorie restrictivă, scăderea distensibilităţii (complianţei pulmonare şi alterarea transferului alveolocapilar), fără tulburări importante de permeabilitate bronşică. Se pot asocia hiperinflaţia moderată şi tulburarea repartiţiei aerului şi sîngelui în plămîn, cu hiperventilaţie şi hipoxemie arterială la efort.

În faza acută se observă o corelaţie între întinderea leziunilor radiologice, dispnee şi gradul de disfuncţie ventilatorie restrictivă. Îngroşarea septurilor alveolare determină tulburarea de difuziune. Diseminarea inegală a granuloamelor interstiţiale explică în parte alterarea raportului dintre ventilaţie şi perfuzia alveolară. Aceasta condiţionează, în mai mare măsură decît scăderea difuziunii, apariţia hipoxemiei, observată mai ales în cazurile severe de boală (Rankin şi colab., 1962).

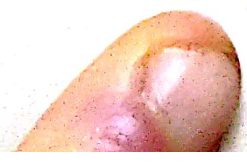
În contrast cu faza acută, în faza cronică, relaţia dintre datele clinice, radiologice şi funcţionale este mult mai puţin evidentă. Nu se poate stabili o legătură nici între simptomele clinice şi tipul de disfuncţie, nici între aspectul leziunilor radiologice şi profilul funcţional (Pierce şi colab., 1968). Interpretarea modificărilor funcţionale în faza cronică a bolii este îngreuiată şi de asocierea cu bronşită datorită fumatului.

Diagnosticul pozitiv se stabileşte pe: a) existenţa în anamneză a expunerii repetate la cereale mucegăite, a intervalului de cîteva ore între inhalarea alergenului şi debutul bolii şi dispariţia simptomelor după înlăturarea contactului alergizant; b) aspectul radiologic caracteristic; c) prezenţa precipitinelor serice specifice; d) profilul funcţional „interstiţial"; e) biopsia pulmonară în cazuri cronice greu diagnosticabile.

Testele cutanate la extrase de fîn sau *Micropolyspora* nu au valoare diagnostică. De regulă ele sînt slab, nesemnificativ pozitive şi pot fi atît de tip imediat, cît şi tardiv. Testul de provocare prin inhalarea experimentală a alergenului constituie proba diagnostică directă (Pepys, 1971). Localizarea reacţiei alergice distal, la nivelul alveolelor, determină scăderea complianţei, a difuziunii şi a disfuncţiei ventilatorie restrictivă.

Diagnosticul diferenţial al alveolitelor alergice este dificil, în special în faza cronică, deoarece aspectul clinic, radiologic şi funcţional este acelaşi cu cel observat în toate afecţiunile interstiţiale; adăugarea elementului bronşitic obstructiv măreşte complexitatea sindromului (cap. 11). În faza acută trebuie eliminat astmul cu precipitine, care apare la persoane neatopice şi se caracterizează prin obstrucţia prelungită a căilor aeriene distale (Siltzbach, 1971).

Evoluţia este variabilă. Expunerea masivă poate declanşa accese extrem de grave, dar de regulă simptomele sînt de intensitate medie şi regresează spontan. Expunerea repetată, chiar fără simptomatologie



Scanned with OKEN Scanner

clinică, poate determina apariţia fibrozei pulmonare şi evoluţia către insuficienţa respiratorie şi cardiacă.

Tratamentul este mai ales preventiv, urmărind evitarea expunerilor alergizante. Se recomandă mecanizarea lucrărilor agricole, ameliorarea condiţiilor de uscare şi depozitare a fînului şi folosirea echipamentului de protecţie (măşti) la persoanele care lucrează în acest mediu (Pepys, 1971). Curativ se foloseşte prednison, care prin acţiunea sa antialergică şi antiinflamatorie suprimă atît fenomenul Arthus, cît şi inflamaţia însoţitoare. S-a mai încercat utilizarea antihistaminicelor, iodurilor, bronhodilatatoarelor, fără efect deosebit (Siltzbach, 1971). În cazurile cronice grave se recomandă tratamentul insuficienţei respiratorii.

B. ALVEOLITELE FIBROZANTE

Pneumonia descuamativă interstiţială (alveolita fibrozantă de tip descuamativ) a fost diferenţiată de Liebow (1965) şi caracterizată prin proliferarea intensă cu descuamarea pneumocitelor granulare, îngroşarea septurilor alveolare şi lipsa necrozei. Fibroza interstiţială difuză (alveolita fibrozantă de tip mural), semnalată în literatura germană încă de la sfîrşitul secolului trecut, este cunoscută însă după descrierea făcută de Hamman şi Rich în 1934 şi caracterizată prin infiltrarea septurilor alveolare cu celule mononucleare, probabil de origine alveolară, urmată de proliferarea fibroblaştilor şi apariţia fibrozei.

Incidenţă, etiopatogenie. Alveolitele fibrozante sînt afecţiuni rare, deşi numărul de cazuri publicate în ultimii ani este în creştere, datorită probabil ameliorării posibilităţilor de diagnostic sau tendinţei de a include în acest grup imaginile pulmonare interstiţiale de etiologie neprecizată (Goldberg şi Mostyn, 1967). Boala se întîlneşte la adulţi, egal repartizată la ambele sexe, la persoane în anamneza cărora nu poate fi reţinută expunerea la agenţi nocivi cunoscuţi.

Coincidenţa debutului cu o infecţie respiratorie şi observarea unor incluziuni intranucleare au sugerat etiologia virală. Incluziunile nu sînt însă particule virale, ci doar nucleoli modificaţi, exteriorizînd creşterea sintezei de nucleoproteine în pneumocitele metabolic active (Patchefsky, 1971). Proliferarea intensă a pneumocitelor granulare a făcut ca alveolitele descuamative să fie atribuite tulburării secreţiei surfactantului şi apropiate de proteinoza alveolară primitivă. Ipoteza nu a fost ulterior confirmată.

În favoarea mecanismului imunologic al acestor afecţiuni pledează o serie de argumente :

a) hipergammaglobulinemia, prezentă uneori în serul a peste 30% din bolnavi ;

b) prezenţa autoanticorpilor, dintre care o atenţie specială a fost acordată factorului reumatoid (Stretton şi Leeming, 1974), considerîndu-se fie că leziunile ar fi induse şi întreţinute de depunerea complexelor antigen — anticorp în capilarele micii circulaţii, fie că boala ar fi o formă particulară de plămîn reumatoid (Racoveanu şi Şuţeanu, 1964). Altă observaţie a fost prezenţa anticorpilor antiplămîn semnalaţi frecvent în serul bolnavilor cu alveolită fibrozantă ; titrul reacţiilor era însă mai mic decît cel observat

Scanned with OKEN Scanner

în tiroidita autoimună sau în boala lupică, ceea ce face rezultatele mai greu de interpretat. În sfîrşit, anticorpii antiplămîn au fost observaţi şi în alte afecţiuni pulmonare cu evoluţie îndelungară (bronşită cronică, sarcoidoză etc.). În acest caz, ei ar putea fi un epifenomen secundar distrugerii parenchimului pulmonar (Racoveanu şi colab., 1967);

c) existenţa infiltratelor interstiţiale limfoplasmocitare asemănătoare celor observate în bolile autoimune, ca şi prezenţa unui material eozinofil asemănător depozitelor de complexe antigen anticorp din aceleaşi boli;

d) participarea pluriviscerală sau asocierea cu alte boli autoimune ca anemia hemolitică, hepatită, sindrom Sjögren (Stack şi colab., 1965; Turner, 1968);

e) răspunsul favorabil la corticoterapie şi imunosupresive;

f) producerea experimentală a leziunilor interstiţiale prin instilarea intratraheală a serului antiplămîn.

Natura stimulului care determină proliferarea pneumocitelor granulare în alveolita descuamativă nu a fost încă elucidată. Existenţa unor incluziuni sudanofile, care par a fi particule inhalate a dus la ipoteza că ele ar fi corpi străini care modifică metabolismul local şi sinteza proteică. Descuamarea intensă a celulelor alveolare ar reprezenta un mod particular de reacţie faţă de un agent sensibilizant necunoscut. Aspectul histologic sugerează că antigenul sau complexele antigen—anticorp acţionează la nivelul învelişului alveolar şi nu al capilarului pulmonar.

În etiopatogenia alveolitei de tip mural au fost incriminaţi şi factori genetici, deoarece o parte din cazuri au apărut cu frecvenţă mai mare în anumite familii, uneori asociate cu prezenţa unor globuline anormale, sugerînd transmisia autosomă dominantă (Hughes, 1964).

Patologie. Livingstone (1964) descrie 5 grade de leziuni caracteristice acestei boli: 1) îngroşarea şi infiltrarea discretă a septurilor alveolare; 2) progresia leziunilor cu umplerea lumenului alveolar cu lichid sau exsudat celular, dar păstrarea structurii parenchimatoase; 3) arhitectura alveolară este alterată, dar se pot recunoaşte încă bronhiolele; 4) structura pulmonară este distorsionată de fibroză, dar se pot observa zone de epiteliu bronhiolar şi fibre musculare; 5) plămînul este transformat în benzi de fibroză şi chiste cu diametrul variabil. Modificărilor histologice le-ar corespunde imagini radiologice sugestive şi anume: aspectul reticular sau micronodular ar fi mai frecvent în stadiile 1 şi 2, în timp ce fibroza densă sau „plămînul în fagure" se observă în stadiile 3 şi 4.

Microscopic, leziunea caracteristică a alveolitei de tip mural este îngroşarea septului cu tendinţa la fibroză şi infiltrare cu celule monocelulare, probabil de origine alveolară. În fazele precoce se întîlnesc infiltrate limfoplasmocitare urmate ulterior de proliferarea fibroblaştilor, apariţia fibrelor de reticulină şi colagen. Epiteliul bronşiolelor este hiperplaziat, alteori bronhiolele sînt obliterate sau dilatate pseudochistic. Se asociază hiperplazia fibrelor musculare netede, realizîndu-se uneori aspectul de „emfizem bronşiolar" sau „ciroza musculară pulmonară".

În alveolita descuamativă, arhitectura este păstrată, dar pereţii alveolari sînt tapetaţi cu straturi de celule mari, rotunjite sau poligonale, cu citoplasma acidofilă şi granule brune-roşcate, PAS-pozitive, care se desprind, aglomerîndu-se în lumen. Atît celulele de înveliş, cît şi cele descua-

Scanned with OKEN Scanner

mate au activitate metabolică intensă şi iau uneori forme multinucleate. În alveole se observă şi macrofage cu lizosomi denşi, granule de lipofuscină şi particule de feritină. Caracteristică este lipsa necrozei, a exsudatului fibrinos şi a membranelor hialine, care o diferenţiază de proteinoza alveolară. Microscopia electronică arată atît înlocuirea pneumocitelor lamelare (tip 1) cu pneumocitele granulare (tip 2), cît şi numărul mare de lizosomi în celulele descuamate.

Tabloul clinic este relativ sărac, simptomul major este dispneea de efort pentru care bolnavul se prezintă de regulă la medic. Examenul fizic este de obicei negativ; rareori se aud raluri crepitante sau subcrepitante la baze; în cazurile severe se observă cianoza, hipocratismul digital, insuficienţa respiratorie. Clinic nu există sindrom caracteristic care permite diferenţierea alveolitei fibrozante de celelalte afecţiuni infiltrative ale interstiţiului pulmonar. Dealtfel, boala poate evolua asimptomatic.

Radiologic, aspectul este tipic, dar nespecific, şi constă în voalarea neomogenă („sticlă mată"), care se întinde de la hil către baze şi respectă vîrfurile (Nicolaescu şi colab., 1972), imagini reticulare sau reticulonodulare. Ulterior, infiltratele pot retroceda sau imaginea poate deveni mai necaracteristică prin afectarea vîrfurilor, intensificarea fibrozei sau apariţia microchistelor („plămîn în fagure"). Nu se poate face o corelaţie între importanţa modificărilor radiologice şi infiltratul interstiţial, deoarece îngroşarea interstiţiului se poate datora şi numărului mare de celule descuamate care tapetează alveolele.

Celelalte examene de laborator sînt necaracteristice. În cîteva cazuri s-au semnalat teste serologice pozitive pentru factorul reumatoid, anticorpi antinucleari şi alte particularităţi imunologice, cum ar fi deficitul de IgA.

Explorarea funcţională evidenţiază în fazele iniţiale disfuncţia ventilatorie restrictivă, cu reducerea paralelă a VEMS şi CV. În fazele avansate se poate asocia hiperinflaţia (creşterea VR şi a raportului VR/CPT), datorită dilatării spaţiilor aeriene distale. Creşterea volumului rezidual nu depăşeşte însă 120—125 %. Complianţa pulmonară este scăzută ca şi difuziunea alveolo-capilară. Reducerea difuziunii împreună cu tulburarea în repartiţia intrapulmonară a aerului şi sîngelui determină hipoxemia arterială fără hipercapnie, accentuată de efort. Caracteristică este de asemenea şi hiperventilaţia, explicată prin mărirea sensibilităţii chemoreceptorilor faţă de hipoxemie, precum şi prin activarea sau înmulţirea receptorilor de tensiune din plămîn şi musculatura respiratorie. Dispneea acestor bolnavi a fost explicată prin hipoxemie şi mai ales prin creşterea travaliului respirator necesar destinderii plămînului rigid.

Diagnosticul pozitiv este sugerat de anamneză şi de imaginea radiologică, dar confirmat numai de examenul histologic. În afară de tuberculoză, sarcoidoză, pneumoconioze, colagenoze, afecţiunea trebuie diferenţiată de proteinoza alveolară primitivă şi hemosideroza pulmonară idiopatică.

Prognosticul bolii este mai bun decît al celorlalte pneumopatii interstiţiale. S-au semnalat remisiuni spontane sau opriri din evoluţie (Goldberg şi Mastyn, 1967); de regulă însă, afecţiunea evoluează spre fibroză ireversibilă cu insuficienţă respiratorie şi cord pulmonar (Nicolaescu şi colab.,

Scanned with OKEN Scanner

1972). Între complicaţiile bolii sînt de reţinut revărsatul pleural şi pneumotoraxul.

Tratament. Corticoterapia a dus în unele cazuri la remisiuni evidente cu reducerea dispneii şi cianozei, creşterea toleranţei la efort, ameliorarea funcţiei pulmonare, retrocedarea imaginii radiologice (Goldberg şi Mostyn, 1967). În alte cazuri, însă, determinarea repetată a funcţiei pulmonare nu a arătat nici o ameliorare a transferului alveolo-capilar, sugerînd că tratamentul steroidic influenţează puţin evoluţia bolii. Este de asemenea discutabil dacă steroizii modifică prognosticul pneumoniei descuamative în mai mare măsură decît pe cel al fibrozei pulmonare interstiţiale. S-au observat însă agravări clinico-radiologice şi funcţionale la întreruperea cortizonului. Terapia antiinflamatorie (antipaludice) şi imunosupresivă încercată în cîteva cazuri a fost ineficientă.

C. ANGEITELE PULMONARE ALERGICE

Angeitele pulmonare alergice sînt afecţiuni care pot fi grupate datorită aspectului histopatologic asemănător şi patogeniei imunologice comune. Zeek (1953) încearcă să le clasifice, în funcţie de predominanţa angeitei sau a reacţiei granulomatoase, schiţînd cadrul diferitelor afecţiuni. Bates (1964) consideră că sferele diferitelor entităţi gnoseologice se încrucişează în măsură variabilă.

Granulomatoza Wegener, descrisă de Klinger în 1931 şi delimitată de Wegener în 1936, a fost caracterizată de Godman şi Churg (1961), care folosesc trei criterii de diagnostic : 1) prezenţa granuloamelor necrotice în tractul respirator ; 2) existenţa vasculitei focale, care cuprinde atît arteriolele, cît şi venele, 3) asocierea glomerulitei.

Etiopatogenie. Afecţiunea apare la adulţi (30—50 de ani), în egală măsură la ambele sexe. Etiologia sa este incertă, o parte din cazuri a fost pusă în legătură cu sensibilizarea la antibiotice şi alte medicamente. O serie de observaţii pledează în favoarea patogeniei imunologice, în sensul formării primare a unui granulom faţă de un agent extern, posibil microbian, care distruge sau denaturează ţesutul pulmonar, creînd un sistem de reacţie autoimună în care plămînul să fie sau locul primar de acţiune al agentului etiologic sau organul de şoc. Distribuţia peribronşică a leziunilor sugerează, ca şi în cazul alveolitelor alergice, pătrunderea agentului primar pe cale aeriană ; totuşi, diseminarea sistemică a granuloamelor şi a angeitei implică participarea unui component vehiculat de sînge (anticorp) în întreţinerea reacţiei alergice. Tot în favoarea patogeniei imunologice pledează şi producerea experimentală a bolii prin injectarea complexelor antigen — anticorp (Germuth şi Pollack, 1967).

Patologie. Leziunile nu diferă mult de cele din periarterita nodoasă, ceea ce a şi făcut ca granulomatoza Wegener să fie considerată ca o formă localizată a acestei boli. Leziunea apare sub formă de noduli rotunjiţi albi-cenuşii, uneori cu necroză centrală, localizaţi în plămîn şi căile aeriene superioare. Microscopic, vasele mici prezintă infiltrate limfoplasmocitare şi eozinofile, îngroşări ale mediei şi intimei, obstrucţia lumenului prin tromboză incomplet recanalizată. Zonele de necroză sînt ase-

Scanned with OKEN Scanner

mănătoare celor din infarcte, cu infiltrat histiocitar periferic şi ţesut de granulaţie. Infiltratul inflamator poate eroda bronhiile sau oblitera bronhiolele.

Clinic, debutul este insidios, cu simptome generale nespecifice şi infecţii ale căilor aeriene superioare sau inferioare. În 2/3 din cazuri, simptomele din partea căilor aeriene superioare sînt pe primul plan : rinoree purulentă, obstrucţie nazală cu cruste, epistaxis, perforaţia septului nazal sau surditate şi otoree purulentă. Participarea pulmonară se manifestă prin tuse cronică, hemoptizii, bronşită purulentă şi uneori pleurizii.

Radiologic se observă la mai mult de jumătate din cazuri, opacităţi mari, rotunde, pulmonare care pot fi diferenţiate de neoplasm, prin faptul că în timp ce leziunea progresează într-un plămîn, regresează în celălalt.

Examenul de laborator ajută puţin la precizarea diagnosticului.

Diagnostic. Diferenţierea afecţiunii de alte angeite alergice cu granuloame extravasculare se face prin lipsa astmului, a manifestărilor alergice şi eozinofiliei sanguine şi prin prezenţa inflamaţiei granulomatoase şi a secreţiilor purulente (Israel şi Patchefsky, 1971).

Angeitele prin hipersensibilizare afectează arterele mici ca şi granulomatoza Wegener (forma microscopică a periarteritei nodoase), dar se diferenţiază de aceasta prin faptul că leziunile sînt toate în acelaşi stadiu evolutiv, declanşarea lor este legată de folosirea medicamentului alergizant, iar granuloamele necrotice pulmonare lipsesc.

Periarterita nodoasă se diferenţiază prin localizarea leziunilor în arterele mijlocii, musculare, predominant la punctele de bifurcaţie. Afecţiunea nu determină lezarea arterelor mici şi a venelor, nu este însoţită de prezenţa granuloamelor necrotice, ci de crize de astm şi eozinofilie ; în evoluţia bolii pot apărea remisiuni, iar participarea renală şi hipertensiunea arterială sînt constant observate.

Evoluţia, de regulă, este letală, în 4—5 luni, cu insuficienţă renală terminală. S-au descris, totuşi, forme localizate în care leziunea pulmonară poate precede cu 4—12 ani diseminarea viscerală (Cassan şi colab., 1970).

Tratament specific nu există. S-a încercat *radioterapia* care poate induce regresia temporară a leziunilor din căile aeriene superioare, influenţînd însă puţin leziunile pulmonare şi renale. Corticoterapia a dublat durata medie de supravieţuire. Deşi s-au publicat cazuri cu supravieţuiri îndelungate (pînă la 13 ani), de regulă însă efectul este tranzitor. Leziunile pulmonare regresează evident, cele renale în mai mică măsură. Terapia imunosupresivă cu azotiperită (Hollanders şi Manning, 1967), azatioprină (Kaplan şi colab., 1968), clorambucil (Mc. Ilvanie, 1966), asociată cu cortizon sau folosită în cazurile în care cortizonul nu mai era eficient a dus la ameliorarea leziunilor pulmonare şi simptomelor clinice şi doar parţial la retrocedarea leziunilor renale (Landsdown, 1968).

Sindromul Goodpasture, descris în 1919 de Goodpasture, se caracterizează prin asocierea glomerulonefritei cu hemoragii pulmonare, însoţite de anemie şi depunere de hemosiderină în septurile alveolare. Se deosebeşte de hemosideroza pulmonară esenţială prin asociere a leziunilor renale şi de periarterita nodoasă prin lipsa angeitei necrotice şi prin importanţa hemoptiziilor.

Scanned with OKEN Scanner

Prevalență — etiopatologie. Afecțiunea apare la adulți tineri (vîrsta medie 26 de ani) și este de trei ori mai frecventă la bărbați. Cauza bolii și secvența leziunilor nu sînt încă precizate; de regulă se consideră că leziunile pulmonare sînt primare; ele pot retroceda după nefrectomie și transplant renal. Apariția mai frecventă la bărbați și uneori la membrii aceleiași familii a dus la incriminarea în patogenia bolii a unui factor genetic, ipoteză neconfirmată însă. Dintre factorii infecțioși o atenție deosebită a fost acordată infecției virale, ipoteză, de asemenea, neconfirmată.

În sprijinul mecanismului imunologic pledează leziunile produse experimental cu globuline organospecifice antiplămîn. Prin injectarea unei doze subletale se obțin infiltrate limfocitare dispuse perivascular în interstițiul pulmonar. Animalele prezintă concomitent glomerulonefrită cu proteinurie. Dacă după cîteva săptămîni se injectează intravenos o cantitate mai mare de ser antiplămîn, animalele mor în 30 minute cu hemoragii pulmonare masive, iar leziunile histologice sînt asemănătoare celor din sindromul Goodpasture. Studii imunohistochimice cu anticorpi fluorescenți au arătat localizarea globulinelor antiplămîn în septurile alveolare și în membrana bazală a glomerulilor renali, sugerînd proprietățile lor nefrotoxice și pneumotoxice. Dealtfel și în patologia umană (sindrom Goodpasture) s-a demonstrat dispoziția lineară a complexelor imune față de IgG și B_1—C—globuline în bazala glomerulară și în septurile alveolare. Nu s-a putut însă stabili dacă un singur anticorp era localizat atît în plămîn, cît și în rinichi și responsabil de producerea ambelor leziuni. Deși anticorpii antiplămîn reacționează încrucișat cu membrana bazală glomerulară, este posibil ca serul antiplămîn să conțină mai mulți anticorpi monospecifici.

În producerea bolii au fost incriminate și mecanisme autoimune. Astfel, animalele imunizate cu antigene omologe sau eterologe de membrană bazală fac glomerulonefrită și au anticorpi circulanți și fixați în rinichi față de antigenul respectiv. Boala poate fi transferată pasiv receptorilor omologi, ceea ce dovedește că în condiții corespunzătoare de imunizare, animalele pot sintetiza anticorpi-antibazală glomerulară (nefritogeni) și pot face glomerulonefrită autoimună. Anticorpii antirinichi au fost semnalați și în serul bolnavilor cu sindrom Goodpasture.

Pe baza similarității între observațiile experimentale și studiile imunologice din patogenia umană s-a sugerat următoarea secvență patogenică: o agresiune inițială, de etiologie necunoscută, poate virală, denaturează țesutul pulmonar, făcîndu-l imunogenic sau pune în evidență antigene ascunse. Dacă componentele imunogenice pulmonare au determinanți comuni cu membrana bazală glomerulară poate apărea o glomerulonefrită. Pe măsură ce leziunea renală progresează, se pot elibera noi antigene de membrană bazală sau complexe membrană bazală + anticorp, a căror trecere în circulație continuă stimularea răspunsului imun și determină creșterea titrului de anticorpi-circulanți, care pot atinge nivel pneumotoxic (Vasquez, 1970). Conform acestei ipoteze, diferența între hemosideroza pulmonară idiopatică și sindromul Goodpasture ar fi doar cantitativă și anume ar consta în activitatea diferită a anticorpilor-antiplămîn, care ar duce în unele cazuri la predominanța leziunilor hemoragice, iar în altele la cea a hemosiderozei.

Scanned with OKEN Scanner

Patologie. Microscopic, plămînii sînt condensaţi cu puncte hemoragice pe suprafaţă. La secţiune se scurge lichid de edem şi apar numeroase zone hemoragice recente şi vechi. Microscopic, leziunea caracteristică este alveolita hemoragică, cu macrofage încărcate cu hemosiderină şi uneori zone nodulare de fibroză septală. Lipsesc inflamaţia, necroza alveolară şi alterările vasculare. Soergel şi Sommers deosebesc sindromul Goodpasture de hemosideroză prin absenţa leziunilor degenerative la nivelul bazalei capilarelor alveolare. În microscopia electronică se observă în septurile alveolare depozite de material asemănător celui din membranele bazale ale capilarelor glomerulare din glomerulonefrita acută. Leziunea primară pare a fi deci în membrana bazală şi nu în endoteliul capilar, iar depozitele sînt complexe imune (Poskitt, 1970).

Clinic, sindromul se caracterizează prin : 1) asocierea pneumopatiei hemoragice cu glomerulonefrita ; 2) suferinţa pulmonară precede de obicei pe cea renală ; 3) disociaţia dintre simptomatologia clinică minoră a nefropatiei şi evoluţia ei inexorabilă ; 4) lipsa hipertensiunii arteriale în fazele iniţiale ale bolii.

Hemoptizia este simptomul cel mai frecvent ; ea poate fi masivă, precedată uneori de infecţii ale tractului respirator superior, însoţită de febră, frisoane, pierdere ponderală, astenie, dispnee, dureri toracice, tulburări gastrointestinale. Paloarea accentuată care apare precoce nu este proporţională cu gradul pierderii de sînge şi împreună cu hemoptiziile domină tabloul clinic în prima perioadă. Ulterior predomină semnele insuficienţei renale progresive. Ea poate determina apariţia leziunilor retiniene sau a insuficienţei cardiace. În etapa finală, simptomele respiratorii se pot accentua din nou, prin apariţia unor hemoptizii masive. De obicei însă bolnavii mor prin insuficienţă renală.

Examene de laborator. Anemia este normo- sau hipocromă, cu durată normală de viaţa hematiilor şi acumularea hemosiderinei în plămîn, în timpul hemoragiilor, ceea ce face ca în spută să apară macrofage încărcate cu fier. Fiind datorată hemoragiilor, anemia este feriprivă şi răspunde la terapia substitutivă. Iniţial, măduva este normală sau prezintă hiperplazia seriei eritrocitare ; ulterior, anemia se datoreşte însă insuficienţei renale. În pusee se observă leucocitoză cu deviere la stînga a formulei leucocitare. În urină se găsesc hematii, proteine şi cilindrii, hematuria putînd deveni simptom important. După apariţia insuficienţei renale se găseşte azotemie şi hiperkaliemie.

Radiologic se observă uneori infiltrate pulmonare de formă, număr şi mărime variabile, datorite infiltratelor sau edemului pulmonar.

Explorarea funcţională evidenţiază disfuncţia ventilatorie restrictivă şi defectul de difuziune cu hipoxemie arterială şi alcaloză care se datoresc hemoragiilor intraalveolare şi îngroşării septurilor (Weiss şi colab., 1968). Hemoragiile repetate duc la asocierea disfuncţiei restrictive cu obstrucţia căilor aeriene mici.

Diagnosticul se stabileşte pe asocierea hemoragiei pulmonare cu glomerulonefrita. Afecţiunea trebuie diferenţiată de : hemosideroza pulmonară, plămînul uremic, glomerulonefrita, periarterita nodoasă, granulomatoza Wegener.

Evoluţia naturală este variabilă, majoritatea deceselor apar în primele 6 luni prin hemoptizie masivă sau uremie. Dacă bolnavul supravie-

Scanned with OKEN Scanner

ţuieşte fazei iniţiale, prognosticul devine mai bun şi se pot obţine remisiuni cu durata medie de 10—22 de luni, semnalîndu-se cazuri izolate cu supravieţuire pînă la 12 ani. Bolnavii cu evoluţie prelungită nu au de regulă determinări renale iniţiale (Freeman şi colab., 1966).

Tratament. Antibioticele sînt puţin eficiente, pot fi folosite doar în cazul infecţiilor supraadăugate. Transfuziile corectează anemia. Azatioprina, utilizată pentru acţiunea sa imunosupresivă, a dat rezultate variabile. În unele observaţii ea nu a modificat evoluţia bolii, deşi depleţia limfocitară certifica eficienţa imunosupresiei (Duncan şi Drummond, 1965). Rezultate favorabile atît în ceea ce priveşte funcţia renală, cît şi prelungirea evoluţiei s-a obţinut şi prin folosirea serului antilimfocitar (Pirofsky şi colab., 1969).

În faze avansate s-a încercat epurarea extrarenală discontinuă (Feeman şi colab., 1966). Nefrectomia bilaterală urmată de transplant renal au dus la dispariţia hemoragiilor pulmonare, retrocedarea imaginii radiologice, ameliorarea sau corectarea deficitului funcţional şi oprirea evoluţiei timp de 1—4 ani (Maddack şi colab., 1967; Nowakowsky şi colab., 1971). Este posibil ca nefrectomia să înlăture stimulul antigenic care întreţine formarea autoanticorpilor şi prin aceasta să întrerupă cercul patogenic de autoîntreţinere a maladiei.

Hemosideroza pulmonară esenţială este o afecţiune rară, de cauză neprecizată, care se întîlneşte la copii şi se caracterizează prin episoade recurente de hemoragii pulmonare cu hemoptizii şi anemie feriprivă secundară (Soergel şi Sommers, 1962). Boala este egal repartizată la ambele sexe, la copii pînă la 16 ani; s-au descris şi cazuri la adulţi la care frecvenţa este de două ori mai mare la bărbaţi. Apropierea afecţiunii de sindromul Goodpasture a sugerat patogenia imunologică, în favoarea căreia pledează eozinofilia, prezentă în 15% din cazuri, aglomerarea mastocitelor în septurile alveolare, creşterea numărului de plasmocite în sistemul reticuloendotelial, prezenţa aglutininelor serice şi asocierea cu alte boli imunologice, ca poliartrita, miocardita, nefrita (Crofton şi Douglas, 1969). Conform acestei ipoteze, plămînul ar fi organul de şoc. În favoarea sa pledează leziunile produse experimental prin ser (globuline) antiplămîn, deşi ele nu sînt identice cu cele din hemosideroză. Un alt argument, observat în patologia umană, este „plămînul posttransplant", care constă din infiltrate perihilare însoţite de defect de difuziune ce apar concomitent cu simptomele rejecţiei grefelor renale (Slapak şi colab., 1968). Nodularităţile peribronşice din acest sindrom seamănă cu cele din hemosideroza pulmonară. În sfîrşit, modificările ultrastructurale ale capilarelor alveolare sînt asemănătoare celor observate în nefrita experimentală prin ser eterolog şi în glomerulonefrita poststreptococică. În toate apar depozite amorfe, dense, situate lîngă membrana bazală şi toate au ca manifestare clinică hemoragia (hemoptizii sau hematurie). Tipul de depozite cu aspect mai organizat de „amprente digitale" din hemosideroză este apropiat de cel din glomerulita lupică (Grishman şi colab., 1967). Aceste depozite nu conţin hemosiderină, deoarece nu sînt granularopace şi amorfe şi relativ transparente. Ele au aspectul complexelor imune, ipoteză întărită şi de scăderea complementului seric semnalată în cîteva cazuri.

Alt aspect, încă insuficient elucidat, este afinitatea exagerată pentru fier a macrofagelor pulmonare, care depăşeşte mult pe cea a celulelor simi-

Scanned with OKEN Scanner

lare hepatice sau medulare. Cu toate depozitele mari de hemosiderină din plămîn, cercetări ferokinetice au arătat că ele nu pot fi utilizate pentru sinteza hemoglobinei şi nici nu pot fi mobilizate cu substanţe kelatoare. Fierul intrapulmonar se găseşte 89% ca fier insolubil, 1% în hem şi doar 10% în feritină. În ce măsură persistenţa prelungită a fierului în septurile alveolare contribuie la instalarea fibrozei rămîne încă de precizat (De Gowin şi colab., 1968). Este posibil ca printr-o reacţie imunologică sau datorită altei cauze să se ajungă la hemoragii repetate intraalveolare. Fierul eliberat din hemoliză este parţial resorbit şi parţial fixat de către apoferitină. Feritina pare a fi ulterior scindată în particule mai mici, care conţin fier şi care prin modificarea structurii coloidale formează agregate ce nu mai pot fi resorbite şi se depun în septurile alveolare.

Patologie. Macroscopic, plămînul este condensat, de culoare ruginie, cu zone hemoragice şi în cazurile cronice cu fibroză interstiţială şi microchiste. Microscopic, alveolele sînt umplute cu numeroase macrofage încărcate cu hemosiderină; alte alveole sînt pline cu hematii, indicînd hemoragii recente (Leahu, 1971).

Clinic, afecţiunea este caracterizată prin episoade de hemoragii intraalveolare, care se manifestă prin hemoptizie însoţită de dispnee, tuse şi anemie secundară. Puseurile au durată variabilă, între cîteva zile şi cîteva săptămîni, şi pot fi separate prin remisiuni complete sau parţiale care pot dura şi cîţiva ani. De regulă, hemoragiile intrapulmonare mici, continuu, determină doar tuse cronică, neproductivă, cu astenie, paloare şi din cînd în cînd expectoraţie ruginie sau hemoptoică; după un timp apar hemoptizii, dureri retrosternale cu submatitate şi raluri crepitante la baze, febră şi accentuarea anemiei.

Radiologic se observă opacităţi difuze, granulare şi desen reticular interstiţial asemănător celui din pneumonia virotică. Opacităţile sînt situate de regulă la baze, dar pot fi dispuse şi radiar, pornind de la hil şi sugerînd edemul pulmonar (Soergel şi Sommers, 1962). Ele se resorb în 1—2 săptămîni şi pot fi însoţite de adenopatii mediastinale. Repetarea hemoragiilor duce la apariţia aspectului de miliară cronică sau fibroză interstiţială difuză cu zone de plămîn în fagure.

Examene de laborator. Anemia este microcitară, hipocromă, cîteodată severă cu anisocitoză, poikilocitoză, reticulocitoză şi uneori leucocitoză. Sideremia scăzută, aviditatea măduvei hematopoetice pentru fier, sechestrarea intrapulmonară a fierului anormal crescută, chiar în afara puseurilor evolutive sînt aspecte care diferenţiază boala de hemosiderozele simptomatice. În spută, lichidul de lavaj bronşic sau aspiratul gastric se găsesc macrofage încărcate cu hemosiderină sau detritus hemoglobinic (siderocite).

Explorarea funcţională evidenţiază disfuncţia ventilatorie restrictivă care depinde de intensitatea hemoragiei şi de numărul de unităţi funcţionale excluse de la schimburile de gaze. Perfuzia alveolară este însă normală, atestînd integritatea patului vascular. Localizarea interstiţială a procesului determină tulburarea de difuziune, transferul de CO fiind semnificativ scăzut. Ea explică existenţa hipoxemiei, accentuată la efort şi însoţită de hiperventilaţie cu hipocapnie.

Diagnostic. Depunerea intrapulmonară a hemosiderinei nu este specifică, ea se poate observa în stenoza mitrală, hemocromatoze, anemia

Scanned with OKEN Scanner

hemolitică, la poli transfuzaţi etc. Clinic, hemosideroza pulmonară idiopatică trebuie diferenţiată de stadiile precoce ale sindromului Goodpasture (în care hemoragiile alveolare preced glomerulonefrita) şi de arteritele alergice pulmonare şi periarterita nodoasă (care pot produce ocazional hemoptizii, dar sînt însoţite de simptome generale caracteristice).

Evoluţia ca şi durata remisiunilor este variabilă (6 luni pînă la 20 de ani). Bolnavii pot muri în orice moment prin hemoptizie masivă. Hemoragiile mici recurente duc la fibroză pulmonară cu insuficienţă respiratorie şi decompensare cardiacă.

Tratamentul este nesatisfăcător. Cortizonul poate controla parţial simptomele. S-a încercat terapia imunosupresivă (azatioprină) cu rezultate mulţumitoare.

D. GRANULOAMELE IMUNE

Termenul de granulom a pretat mult timp la confuzii din cauza dificultăţii de a diferenţia inflamaţia cronică granulomatoasă, (cu celule epitelioide şi variante ale lor), de inflamaţia cronică negranulomatoasă (cu limfocite şi eozinofile, celulele epitelioide fiind absente). Astăzi, ţinînd seama de prezenţa celulelor epitelioide şi macrofage, precum şi de modul lor de organizare, inflamaţia granulomatoasă a putut fi clasificată (tabelul nr. 29).

Tabelul nr. 29

Caracterele clinice ale granuloamelor alergice şi nealergice

Caractere clinice	Granulom alergic	Granulom nealergic
Incidenţa	mic procent din populaţia expusă	la toată populaţia expusă
Cantităţi necesare pentru producere	foarte mici	mari
Tipul materialului injectat	solubil sau insolubil	insolubil, dar coloidizabil
Apariţie	lentă (6—8 săpt.)	rapidă (1—3 săpt.)
Evoluţie	prelungită (luni — ani)	rapidă (săptămini)

În cadrul granuloamelor alergice, în acord cu Shelley şi Hurley (1971), vor fi descrise cele rezultate din expunerea la beriliu.

Berilioza. Expunerea la beriliu şi la compuşii săi poate produce două entităţi clinice deosebite. Forma acută se manifestă de obicei sub forma unei rinofaringite sau a unei pneumonii, care apare după un interval de zile—săptămîni de la expunere şi este susceptibilă, cu un tratament adecvat, de rezoluţie completă. Forma cronică apare după un interval variabil de la expunere, de obicei mai lung decît la forma acută, se caracterizează prin modificări pulmonare şi sistemice care au un substrat histologic asemănător cu al sarcoidozei şi produce alterări fibrotice ireversibile ale plămî-

nului. Perioada latentă care precede apariţia bolii clinice poate fi de ani de zile, iar expunerea minimă, încît diagnosticul pozitiv este adesea greu de stabilit. Simptomele bolii sînt necaracteristice (dispnee progresivă, tuse neproductivă, degete hipocratice, leziuni cutanate asemănător celor din sarcoidoză).

Radiologic se descriu modificări difuze granulare în ambii plămîni (tip furtună de nisip), urmate rapid de apariţia micronodulilor, fibrozei extensive şi macronodulilor (cu diametru de 0,5—1 cm). În stadiile tardive, fibroza pulmonară beriliozică nu poate fi deosebită de cea produsă de alte boli (sarcoidoză, alveolite alergice etc.).

Aspectul histologic este foarte asemănător cu al sarcoidozei, iar modificările probelor funcţionale respiratorii survin în aceeaşi manieră (disfuncţie ventilatorie restrictivă cu hiperventilaţie şi hipoxemie de efort, scăderea capacităţii de difuziune alveolo-capilară şi a complianţei statice).

Diagnosticul beriliozei cronice întîmpină dificultăţi remarcabile deoarece atît aspectele clinice, biologice (inclusiv tulburările metabolismului calciului), cît şi cele radiologice, funcţionale şi histopatologice sînt foarte asemănătoare cu cele întîlnite în sarcoidoză. Clinic se admite totuşi că uveita, adenopatia periferică, prinderea glandelor salivare şi lacrimale şi modificările osoase sînt o raritate în beriliză. Identificarea beriliului în ţesuturi şi în urină se poate face spectrografic, dar ea trebuie corelată cu datele anamnestice, clinice şi histopatologice (Lieben şi colab., 1966). Analiza spectrografică a granuloamelor beriliozei detectează variaţii considerabile de la caz la caz.

La pacienţii cu beriliză cronică cutanată sau pulmonară, testul cutanat cu beriliu este de mare valoare diagnostică. El constă în aplicarea unei soluţii 1—2 % de săruri de beriliu (de obicei sulfat sau azotat), timp de 48 de ore, după care se pot observa două feluri de reacţii : la 48—72 de ore apare o reacţie acută inflamatorie eczematiformă, de tip imediat care poate persista 5—8 zile, iar după 3—4 săptămîni la locul de contact se dezvoltă un granulom cu celule epiteloide. Primul tip de reacţie, deşi utilizat iniţial pentru diagnosticul bolii, a fost părăsit mai tîrziu datorită reacţiilor fals pozitive şi nespecificităţii sale. Granulomul imun, de tip tardiv este însă strict specific, perfect reproductibil în timp la indivizii sensibilizaţi şi apare după expunerea la cantităţi extrem de mici de beriliu (1 microgram oxid de beriliu). Datorită faptului că testul pozitiv indică numai hipersensibilitatea la beriliu şi nu dovedeşte asocierea cu modificările pulmonare, iar testul negativ nu exclude totuşi berilioza cronică, interpretarea lui trebuie făcută în contextul celorlalte date clinice, biologice, radiologice şi histologice (Norris şi Peard, 1963).

Evoluţia beriliozei netratate este oricum asemănătoare cu a sarcoidozei, deşi cazurile grave, cu fibroză pulmonară avansată şi cord pulmonar cronic, sînt mai frecvente (Crofton şi Douglas, 1969).

Tratament. Administrarea corticoterapiei în doze suficiente şi o perioadă de timp corespunzătoare (posologic asemănătoare cu cea din sarcoidoză) poate produce dispariţia granuloamelor imune şi împiedică instalarea fibrozei pulmonare (Stoeckle şi colab., 1969). Ca şi în sarcoidoză, s-a constatat o ameliorare spontană a simptomelor în cursul sarcinii, probabil datorită concentraţiilor crescute de cortizol din cursul ultimei perioade de gestaţie.

Scanned with OKEN Scanner

E. SARCOIDOZA

Deşi cunoscută de peste 80 de ani. sarcoidoza este şi în prezent o boală cu etiologie obscură. În prezent se acceptă definiţia utilizată la cea de-a 2-a Conferinţă Internaţională asupra sarcoidozei (1961) : „Sarcoidoza este o boală granulomatoasă sistemică cu etiologie şi patogenie neprecizată. Organele cele mai afectate sînt ganglionii limfatici mediastinali şi periferici, plămînii, ficatul, splina, pielea, ochii, oasele falangelor şi glandelor parotide. Reacţia Kveim este frecvent pozitivă, iar hipersensibilitatea de tip întîrziat este de obicei depresionată. Alte caracteristici biologice sînt hipercalciuria şi creşterea globulinelor serice. Din punct de vedere histologic, absenţa necrozei în tuberculii epitelioizi nu poate fi socotită patognomonică, fiind absolut necesară excluderea tuberculozei, infecţiilor fungice, beriliozei şi reacţiile locale de sarcoid. Diagnosticul de certitudine se pune pe asocierea datelor clinice revelatoare cu evidenţa histologică a tuberculilor epitelioizi la biopsie sau la testul Kveim".

Epidemiologie. Boala este răspîndită practic pe tot globul, însă frecvenţa şi distribuţia exactă nu se cunosc. În Europa, studii de prevalenţă a bolii, efectuate mai ales pe baza examenului radiologic, arată o creştere a frecvenţei de la sud la nord. În unele ţări s-a observat că distribuţia bolii este inegală în diferite regiuni, fapt care a ridicat posibilitatea intervenţiei unor factori ecologici locali. S-a constatat că frecvenţa bolii este mai ridicată în ţările cu morbiditate tuberculoasă redusă, însă nu se ştie dacă în ţările cu tuberculoză extinsă diagnosticul sarcoidozei se face întotdeauna corect.

Vîrsta cea mai afectată este între 40 şi 50 de ani, cu preponderenţă pentru sexul feminin. În Statele Unite, boala atinge mult mai frecvent populaţia neagră ; acest lucru poate fi datorit unor factori genetici, dar şi unor influenţe sociale economice şi geografice.

Etiologie. Iniţial s-a crezut că sarcoidoza este o formă specială a tuberculozei în care caracterele atipice erau explicate ca fiind datorate fie unei reactivităţi neobişnuite a organismului, fie unor bacili Koch atipici. Există însă o serie de contraargumente foarte serioase, dintre care amintim distribuţia de vîrstă diferită, existenţa anergiei tuberculinice, ineficienţa medicamentelor antituberculoase etc.

Alte ipoteze susţin că tabloul clinic polimorf al sarcoidozei sugerează existenţa mai multor agenţi specifici neidentificaţi între care au fost pe rînd incriminaţi virusurile, fungii, microbacteriile atipice şi polenurile de pin. Unele componente antigenice ale acestora sînt capabile să producă granuloame epitelioide la animale. Nu există însă suficiente argumente epidemiologice şi experimentale care să poată susţine aceste teorii.

Al treilea grup de ipoteze susţine existenţa unei reactivităţi particulare a ţesuturilor gazdei la unul sau mai mulţi agenţi patogeni. Modificarea reactivităţii imune a gazdei, rezultatul unei susceptibilităţi genetice sau a unor factori dobîndiţi, necunoscuţi ar constitui fondul pe care se dezvoltă răspunsurile granulomatoase la diferiţi stimuli. În sprijinul acestor ipoteze vin cazurile de sarcoidoză familială, anomaliile imune caracteristice, precum şi apariţia în sarcoidoză a unor manifestări similare bolilor

Scanned with OKEN Scanner

prin hipersensibilizare ca eritemul nodos, uveita, artritele, tiroidita şi arteritele. S-a putut demonstra creşterea Ig, mai ales de tip IgA şi IgG în granuloamele sarcoide (Elling şi Wanstrup, 1969) şi a unei cantităţi crescute de Ig circulante, de tip IgA şi IgM (Buckley şi Dorsey, 1970).

Siltzbach (1971) susţine că microbacteriile sau alţi agenţi patogeni ar avea rol sensibilizant, analog adjuvantului Freund, în dezvoltarea tardivă a reacţiei granulomatoase.

Există un argument convingător asupra existenţei unui singur agent patogen în sarcoidoză : suspensia Kveim dintr-o singură splină sarcoidotică a servit drept test diagnostic în întreaga lume. Studii viitoare asupra identităţii exacte a fracţiunii antigenice din materialul Kveim vor aduce poate date noi privind etiologia sarcoidozei.

Histopatologie. Granulomul tuberculoid din sarcoidoza acută se caracterizează prin aglomerări de celule mari, de origine histiocitară, cu citoplasma uşor acidofilă şi nucleu alungit, foarte aproape una de alta încît uneori sînt imposibil de delimitat (celule „epitelioide"). Caracteristic este faptul că în studiile precoce de boală nodulii sînt în aproximativ acelaşi stadiu de evoluţie. Printre celulele epitelioide şi histiocite se văd adesea celule gigante, multinucleate, provenite din unirea celulelor epitelioide, iar la periferia granulomului se observă un infiltrat inflamator nespecific (limfocite, eozinofile, mastocite). Uneori, granulomul este delimitat de benzi discrete de scleroză hialină cu dispoziţie predominant lamelară. Citoplasma celulelor gigante poate conţine unele incluziuni care nu sînt nici caracteristice şi nici esenţiale pentru diagnosticul de sarcoidoză. Astfel s-au descris incluziuni rotunde sau ovale, formate din lamele concentrice („corpii Schaumann"), stelate („corpii asteroizi") şi cristaline dublu-refractile, ce pot conţine calciu şi fier.

Spre deosebire de tuberculoză, tuberculii sarcoizi nu suferă procese de necroză şi, în consecinţă, reţeaua de reticulină dintre histiocite şi din jurul nodulilor rămîne intactă. Studii electronmicroscopice recente au arătat că celulele epitelioide sînt strîns legate una de alta şi conţin un mare număr de mitocondrii, ceea ce indică o activitate metabolică foarte intensă. Celulele gigante, care se credea că sînt foarte puţin active, conţin şi ele un mare număr de mitocondrii, sugestiv pentru o activitate energetică intensă.

Tabloul clinic este extrem de variat. Practic, orice organ sau ţesut poate fi implicat, cu excepţia glandelor suprarenale. Într-un număr important de cazuri (60—70 %), boala este latentă, descoperită de un examen periodic sau paucisimptomatică şi cu evoluţie benignă. Distribuţia localizărilor clinice depinde în mare măsură şi de stadiul bolii, cei cu forme acute sau subacute avînd un număr mic de organe afectate (de obicei localizare mediastinal-pulmonară).

Diagnosticul pozitiv se stabileşte pe date clinice revelatoare confirmate de evidenţierea histologică a granuloamelor epiteloide în biopsiile tisulare sau dintr-un test Kveim pozitiv (Centea şi colab., 1971). Diagnosticul histologic se face mai uşor pe ganglionii limfatici periferici (supraclaviculari, prescalenici, epitrohleeni) sau pe leziunile cutanate de tip infiltrativ. În absenţa acestora, biopsia hepatică este revelatoare în 60—80 % din cazurile, fără afectare clinică evidentă. Mediastinoscopia sau biopsia pulmonară sînt rezervate acelor cazuri în care alte mijloace de

Scanned with OKEN Scanner

diagnostic au dat greş şi în care este imperios necesară excluderea altor boli.

Imunologie. S-a constatat că răspunsurile imunologice ale bolnavilor cu sarcoidoză sînt alterate aproape caracteristic, fără să se poată însă preciza dacă aceste deficienţe sînt expresia unor carenţe primitive sau a unora dobîndite.

Imunitatea mediată celular, de tip tardiv (cap. 7), este profund alterată. S-a afirmat, prin analogie cu lepra, că această depresiune este datorită depleţiei selective a limfocitelor timodependente de ariile paracorticale ale ganglionilor limfatici (cap. 2). Rareori însă, ganglionii limfatici nu sînt afectaţi în întregime în sarcoidoză şi atunci, teoretic, ar trebui să fie implicate şi limfocitele B. Siltzbach încearcă să explice acest fapt prin rămînerea intactă a unor rezervoare de limfocite timoindependente în plăcile lui Peyer, foarte rar afectate în sarcoidoză.

Prima constatare de depresiune a imunităţii tardive a fost observarea anergiei la tuberculină, mai accentuată în cazurile cronice sau în cele cu afectare pluriviscerală. Hosoda (1967) constată că în Japonia, sensibilitatea la PPD a sarcoidoticilor vindecaţi revine deseori la normal. Se consideră că aceasta ar putea fi datorită fie unor infecţii primare tuberculoase cu germeni circulanţi, care influenţează memoria imunologică a limfocitelor timusdependente, fie persistenţa unor granuloame tuberculoase latente în organe inaccesibile. Lipsa reacţiei la tuberculină nu este datorită absenţei infecţiei tuberculoase anterioare deoarece studii numeroase au arătat dispariţia sensibilităţii tuberculinice la debutul sarcoidozei sau la cîteva luni după debut.

Altă evidenţă de alterare a imunităţii tardive este capacitatea redusă a bolnavilor cu sarcoidoză de a deveni tuberculino-sensibili cînd sînt vaccinaţi BCG, fenomen dovedit atît la bolnavii activi, cît şi la cei vindecaţi clinic (Israel şi Sones, 1967). Mai mult, s-a dovedit (cu vaccin marcat radioactiv şi prin biopsii practicate la nivelul locului de vaccinare) că bacilii tuberculoşi persistă la locul injecţiei şi în ganglionii axilari, dar nu induc hipersensibilitatea la tuberculină. Se ridică astfel ipoteza afectării nu numai a limfocitelor T, responsabile de imunitatea tardivă, dar şi a macrofagului, a cărui „activare" prin fenomene de *feedback* de către limfocitele T ar rămîne deficitară (Mackaness, 1970). Numai infecţia tuberculoasă virulentă poate readuce la normal, şi aceasta pentru scurt timp, hipersensibilitatea la tuberculină.

În sfîrşit, corespunzător anergiei tuberculinice, transformarea limfoblastică a limfocitelor periferice cultivate *in vitro* (cap. 6) stimulate cu PHA sau PPD este deficitară în sarcoidoză (Racoveanu şi colab., 1970). Pe de altă parte, stimularea cu antigen Kveim a limfocitelor bolnavilor sarcoidotici creşte transformarea limfoblastică.

Reacţiile de hipersensibilitate de tip întîrziat cu alte antigene decît cel tuberculinic sînt de asemenea alterate. S-a demonstrat astfel că intradermoreacţiile la antigen variate (virale, bacteriene, fungice) sînt negative, dar producţia de anticorpi este nemodificată.

Rejecţia omografelor, deşi întîrziată, nu este împiedicată la bolnavii cu sarcoidoză. Cercetările făcute cu substanţe chimice sensibilizante prin contact, deşi arată o sensibilizare mai mică a acestor bolnavi faţă de unele

Scanned with OKEN Scanner

droguri (2-4-dinitroclor-benzen), nu sînt revelatoare pentru dispariţia în întregime a acestui tip de hipersensibilitate (Sharma şi colab., 1971). Aceasta subliniază caracterul totuşi diferenţiat al alterărilor diferitelor tipuri de sensibilitate tardivă.

Siltzbach şi colab. (1970) găsesc că limfocitele bolnavilor cu sarcoidoză, deşi cu transformare blastică redusă la PPD, au în timp un potenţial proliferativ neobişnuit, care plasează sarcoidoza în rîndul bolilor limfoproliferative. Dinamica maturării limfocitare, studiată autoradiografic cu timidină tritiată, arată o creştere substanţială a procentajului de celule cu sinteză activă de DNA. Această creştere a sintezei de DNA şi capacitatea de supravieţuire îndelungată *in vitro* sugerează că în sarcoidoză, ca şi în alte boli limfoproliferative, unele din limfocitele circulante se divid şi diferenţiază accentuat datorită stimulării de către unii factori necunoscuţi.

Imunitatea umorală este practic nemodificată în sarcoidoză. S-a demonstrat sinteza normală de anticorpi faţă de o serie de antigene atît la injecţia primară, cît şi la cea secundară (Persellin şi colab., 1966). Singura excepţie a sintezei normale de anticorpi este lipsa anticorpilor neutralizanţi pentru infecţiile naturale cu bacteriofagi tip Coli T_2 la circa 22% din sarcoidotici.

Imunoglobulinele serice sînt modificate în sarcoidoză, mai ales în funcţie de tipul evolutiv al bolii. În formele cu adenopatie hilară mediastinală s-au găsit nivele crescute de IgA şi IgM, pe cînd în formele de afectare difuză pulmonară creşte concentraţia IgG. S-au mai raportat cazuri de sarcoidoză cu nivele serice crescute de macroglobuline, crioglobuline sau factor reumatoid; faptul acesta este considerat mai mult ca un epifenomen care dovedeşte odată în plus păstrarea nealterată a capacităţii de sinteză a anticorpilor. Detectarea unor valori medii crescute ale complementului nu pare să reflecte decît leziunile inflamatorii nespecifice din această boală sau localizarea intracelulară a conflictului antigen-anticorp (Buckley şi colab., 1966). Unii autori au găsit o frecvenţă crescută a anticorpilor antiplămîn în sarcoidoză (Racoveanu şi colab., 1967). Coexistenţa anticorpilor antitiroidieni, antimucoasă gastrică, antimitocondriali şi ineficienţa tratamentului imunosupresiv par să indice că mecanismele autoimune nu au un rol deosebit în această boală.

Testul Kveim, descris încă din 1941, constă în apariţia, la locul injecţiei unei suspensii standardizate de ţesut sarcoid (ganglion limfatic, splină etc.), a unor leziuni sarcoide identificabile microscopic. Histogeneza acestui test se caracterizează prin apariţia în primele ore de la injectare a celulelor mononucleare, cu nucleu mare, asemănătoare cu celulele blastice observate *in vitro* după stimularea cu PHA; primele celule epitelioide se observă după circa 14 zile, iar granulomul este în întregime constituit după 5—6 săptămîni. Principiul activ din antigen nu este cunoscut. Se ştie că suspensiile Kveim sînt termostabile şi că fracţiunea activă este insolubilă în apă, eter, alcool, rezistentă la ultrasunete şi enzime (proteinaze, hialurinidaze, neuraminidaze etc.). Antigenul Kveim poate fi inactivat de către substanţe alcaline, prin autoclavare la 120°C, timp de 20 minute, sau ca uree 8M combinată cu mercoptoetanol, fapte care pledează pentru natura proteică a fracţiunii active.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul reacţiei Kveim este încă necunoscut. Se poate presupune că el reprezintă un tip particular de reacţie de hipersensibilitate întîrziată la substanţe alcalino-sensibile, probabil de natură proteică, al căror caracter neobişnuit este determinat de către procesele metabolice intra-epitelioidale.

Evoluţie. Există două mari forme evolutive ale sarcoidozei : 1) subacută, care evoluează mai ales la tinerii sub 30 de ani, are localizări paucivisceral (de obicei limfom hilar sau sindrom Lofgrën), evoluţie regresivă în 1 sau 2 ani şi prognostic bun ; 2) cronică (mai rar întîlnită în Europa), se caracterizează prin debut peste 30 de ani, diseminare plurivisceralâ, evoluţie prelungită, variabilă şi prognostic mai rezervat. Unele cazuri cu evoluţie cronică, puţin numeroase, regresează spontan, altele rămîn staţionare sau se vindecă cu defect, iar majoritatea, în lipsa tratamentului, evoluează spre fibroză pulmonară şi insuficienţă respiratorie.

Tendinţa naturală a sarcoidozei spre retrocedare şi vindecare este o realitate, dar nu avem date suficiente pentru a putea aprecia importanţa procentuală şi calitatea acestor retrocedări. Dealtfel, mulţi autori susţin că majoritatea sarcoidozelor nu necesită tratament (Deenstra şi van Ditmars, 1968).

Tratamentul de selecţie este corticoterapia, cu efect supresiv asupra fazei active a granulomului sarcoidotic, şi împiedicarea instalării fibrozei. Indicaţiile sînt reprezentate de formele febrile (indiferent de stadiu), cu atingerea stării generale, şi formele diseminate, multiviscerale, inclusiv cele cu osteoporoză, hipercalcemie, atingere nervoasă, miocardică, oculară, cutanată, parotidiană, musculară sau endocrină. În formele endotoracice, întîlnite obişnuit în ţara noastră, corticoterapia este justificată numai la cei cu prindere interstiţială, miliară, pulmonară sau cu anomalii ale probelor funcţionale respiratorii (Bruckner şi colab., 1969). Se consideră că existenţa tulburărilor de difuziune alveolo-capilare la bolnavii cu limfom hilar indică prezenţa granuloamelor sarcoidozice în interstiţiul pulmonar şi constituie un imperativ pentru corticoterapie. Tratamentul corticoid se administrează în doze medii (30—50 mg/zi), lent descrescînde pînă la doza de întreţinere de 10—15 mg/zi, care trebuie menţinută cel puţin 2 ani. Agravarea clinică sau radiologică cu ocazia scăderii posologiei indică necesitatea creşterii temporare a dozelor şi a prelungirii perioadei de tratament.

Utilizarea antimalaricelor de sinteză (clorochin 500 mg/zi, timp de 8—12 luni) este rezervată cazurilor uşoare, benigne, cu contraindicaţii pentru corticoterapie, precum şi manifestărilor cutanate. Acţiunea lentă, efectul supresiv inferior celui cortizonic, toleranţa dificilă şi riscurile efectelor secundare oculare (opacităţi corneene, retinopatie) fac dificilă administrarea acestui medicament în cure prelungite.

Imunosupresia cu azatioprină sau ciclofosfamidă, rezervată numai cazurilor grave, corticodependente, nu a dat rezultate concludente pentru a intra în practica curentă.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

BATES D. V., CHRISTIE R. V., *Respiratory function in disease*. W. B. Saunders Co., Philadelphia—Londra, 1964.

BRUCKNER I., BĂICOIANU S., RACOVEANU C., NICOLAESCU V., St. cerc. med. int., 1969, *10*, 505.

BUCKLEY C. E., DORSEY F. C., Ann. Intern. Med., 197, *72*, 34.

BUCKLEY C. E., NAGAYA H., SIEKER H. O., Ann. Intern. Med., 1966, *64*, 508.

CARRINGTON C. B., LIEBOW A. A., Amer. M. Med., 1966, *41*, 497.

CASSAN S. M., COLES D. T., HARRISON E. G., Amer. J. Med., 1970, 49, 366.

CENTEA A., ŞERBAN A., PAPILIAN V. V., Med. Int., 1971, *23*, 357.

CROFTON J., DOUGLAS A., *Respiratory diseases*, Blackwell Scient. Public., Oxford a. Edinburgh, 1969, p. 501.

DEENSTRA H., VAN DITMARS M. J., Dis. Chest., 1968, *53*, 57.

DE GOWIN R. L., SOERENSEN L. B., CHARLESTON D. B., GOTTSCHALK A., GREENWALD J. H., Ann. Intern. Med., 1968, *63*, 1 213.

DUNCAN D. A., DRUMMND K. N. et al., Ann. Intern. Med., 1965, *62*, 920.

ELLING P., WANSTRUP J., Acta Path. Microbiol. Scand., 1969, *77*, 326.

EMANUEL D. A., WENZEL F. G., BOWERMAN C. I., LAWTON B. R., Amer. J. Med., 1964, *37*,392.

FREEMAN R. M., VERTEL R. M., EASTERLING R. E., Arch. Intern. Med., 1966, *117*, 643.

GERMUTH F. G., POLLACK A. D., John Hopkins Med. J., 1967, *125*, 254.

GODMAN G. C., CHURG J., Arch. Int. Med., 1961, *108*, 269.

GOLDBERG N. M., MOSTYN E. M., Dis. Chest., 1967, *52*, 245.

GRISHMAN E., PORUSH J., ROSEN S. M., CHURG J., Lab. Invest., 1967, *16*, 717.

HOLLANDER D., MANNING R. T., Ann. Intern. Med., 1967, *67*, 393.

HOSODA Y., OKA H., CHIBA Y., KITAMURA K., în *La sarcoïdose*, sub red., J. TURIAF J. CHABOT, Masson, Paris, 1967, p. 307.

HUGHES E. W., Thorax, 1964, *19*, 515.

ISRAEL H. L., PATCHEFSKY A. S., Ann. Int. Med., 1971, *74*, 881.

ISRAEL H. L., SONES M., în *La sarcoïdose* sub red. J. TURIAF J. Chabot, Masson, Paris, 1967, p. 295.

KAPLAN S. R., HAYSLETT J. P., CALABRESI P., New Engl. J. Med., 1968, *278*, 239.

LANSDOWN F. S., Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, 722.

LEAHU S., St. cerc. med. int., 1971, *12*, 47.

LIEBEN J., DATTOLI J. A., VOUGHT V. M., Arch. Environ. Health 1966, *12*, 331.

LIEBOW A. A., STEER A., BILLINGSLEY J. G., Amer. J. Med., 1965, *39*, 369.

LIVINGSTONE J. L., LEWIS J. G., REID L., JEFERSON K. E., Quart. J. Med., 1964, *33*, 71

MACKANESS G. B., in *Infectious agents and host reactions*, sub red. S. MUDD, W. B. SAUNDERS & Co., 1970, p. 61.

MADDOCK R. K., STEVENS L. E., REEMTSMA K., BLOOMER H. A., Ann. Intern. Med., 1967, *67*, 1 258.

MC. ILVANIE S. K., J. A. M. A., 1966, *197*, 170.

NICOLAESCU V., LEAHU Ş., ŢECULESCU D., RACOVEANU C., Rev. Roum. Méd. Int., 1972, *9*, 491.

NORRIS G. F., PEARD M. C., Brit. med. J., 1963, *1*, 378.

NOWAKOWSKI A., GROVE R. G., ANTONOVYCH T. T., KNESER M. R., CARTER C. B., KNEPSHIEL J. M., Amm. Int. Med., 1971, *75*, 243.

PATCHEFSKY A. S., BANNER M., FREUNDLICH I. M., Ann. Int. Med., 1971, *74*, 322.

PEPYS J., în *Immunological diseases*, ed. a 2-a, sub red. M. SAMTER, Little, Brown a. Company, vol. 2, Boston, 1971, p. 693.

PERSELLIN R. H., BAUM J., ZIFF M., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1966, *121*, 638.

PIERCE A. K., NICHOLSON D. P., MILLER J. M., JOHNSON R. L., Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, *97*, *561*.

PIROFSKY B., BARDANA E. J., BAYRACKI C., J.A.M.A., 1969, *210*, 1 059.

POSKITT T. R., Amer. J. Med., 1970, *49*, 250.

RACOVEANU C., DĂNCESCU I., BERCEANU ŞT., *La sarcoïdose*, sub red. J. TURIAF, J. CHABOT, IV-e Conférence Internationale, Masson, Paris, 1967, p. 291.

RACOVEANU C., GOCIU M., NICOLAESCU V., Rev. Roum. Méd. Int., 1970, *7*, 193.

RACOVEANU C., ŞUŢEANU ŞT., Med. int., 1964, *16*, 393.

RANKIN J., JAESCHKE W. M., CALLIES Q. C., DICKIE M. A., Ann. Int. Med., 1962, *57*, 606.

SHARMA O. P., VAMES D. G., FOX R. A., Chest, 1971, *60*, 35.

Scanned with OKEN Scanner

SHELLEY W. B., HURLEY H. J., în : *Immunological diseases.* ed. a 2-a, sub red. M. SAMTER, vol. 2, Little, Brown a. Company, Boston, 1971, p. 722.
SILTZBACH L. E., în *Immunological diseases* ed. a 2-a, sub red. M. SAMTER editor, vol. 1, Little, Brown a. Company, Boston, 1971, p. 581.
SILTZBACH L. E., GLADE P. R., HIRSHAUT Y., VIEIRA L. O. B., CELIKOGLU S., HIRSCHHORN K., în *Proceedings of the 5th International Conference on Sarcoidosis*, sub red., Levinsky L., Macholk F., Charles University, Pragae, 1970.
SLAPAK M., LEE H. M., MUME D. M., Brit. Med. J., 1968, *1*, 80.
SOERGEL K. M., SOMMERS S. C., Amer. J. Med., 1962 *32*, 499.
STACK B. M. R., GRANT J. W. B., IRWINE W. J., MOFFAT M. A. J., Am. Rev. Resp. Dis., 1965, *92*, 939.
STOECKLE J. D., HARDY H. L., WEBER A. L,, Amer. J. Med., 1969, *46*, 545.
STRETTON T. B., LEEMING J. T., Thorax, 1964, *19*, 79.
TURNER WARWICK M., Quart. J. Med., 1968, *37*, 133.
VAZQUEZ J. J., Arch. Intern. Med., 1970, *126*, 471.
WEBER A. L., STOECKLE J. D., HARDY H. L., Amer. J. Roentgenol., 1965, *93*, 879.
WEISS B. E., EARNEST L. D., GREALLY F. J., Amer. Rev. Res. Dis., 1968, *97*, 444.
ZEEK P. M., Amer. J. Clin. Path., 1953, *248*, 764.
*** *Proceedings of the International Conference on Sarcoidosis*, iunie 1 — 3, 1960, Amer. Rev. Resp. Dis., 1961, *84*, partea a 2-a.

15. BOLILE ENDOCRINE AUTOIMUNE

LIGIA SIMIONESCU şi ŞT. BERCEANU

Începînd cu anul 1956, studiul fiziopatologic al tiroiditelor intră într-o etapă nouă, etapa imunobiologică. Debutul noii etape este marcat de lucrările publicate în 1956 de Witebsky şi colab. şi de Roitt şi Doniach. Problema de fond este diferită faţă de etapa precedentă caracterizată, cu excepţia lucrărilor lui Marinescu (1910), prin încercări de a obţine seruri specifice antitiroidiene. Witebsky şi colaboratorii, pornind de la datele cunoscute asupra anemiilor hemolitice autoimune, realizează experimental, prin metode de autosensibilizare, procese morfologice tiroidiene analoge tiroiditei cronice Hashimoto. Roitt şi Doniach (1956), cautînd cauza unor anomalii ale proteinelor plasmatice la bolnavii cu tiroidită cronică, observă frecvenţa crescută a autoanticorpilor tiroidieni. Schimbarea în modul de gîndire ţine de implicaţiile patogenice ale antigenicităţii componentelor ţesuturilor glandulare.

A. BOLI TIROIDIENE AUTOIMUNE

Clasificarea din punct de vedere imunologic a bolilor tiroidiene autoimune diferenţiază : *a*) boli autoimune *tipice* (boala Hashimoto, tiroidita limfocitară cronică şi mixedemul primar (spontan) al adultului) ; *b*) boli susceptibile de a avea un *coeficient* autoimun (boala Basedow, hipertiroidia, hipotiroidia, tiroidita acută şi subacută, starea de postiradiere terapeutică, guşa cu hiper- sau hipotiroidie, nodulul tiroidian şi cancerul tiroidian). Prezenţa autoanticorpilor tiroidieni (tabelul nr. 30) este constant semnalată în aceste boli.

Tiroidita Hashimoto (sinonime : struma Hashimoto, guşa sau struma limfomatoasă, guşa limfadenoidă, tiroidita limfoidă cronică) a fost descrisă clinic şi histologic de Hashimoto în 1912 ca guşă cu aspect histologic special, apărînd la femei de peste 40 de ani, fără alterări importante ale stării generale. Este o îmbolnăvire a glandei tiroide caracterizată *clinic* prin oscilaţii funcţionale cu tendinţă la hipotiroidie, *histologic* prin infiltraţii limfoplasmocitare difuze cu apariţia foliculilor germinativi, hiperplazia variabilă a colagenului interstiţial şi prin modificări degenerative oxifile ale epiteliului, iar *imunochimic* prin marea frecvenţă a autoanticorpilor tiroidieni cu titru ridicat.

Simptomatologie clinică. Boala apare cu frecvenţă mare între 40 şi 60 de ani ; sînt descrise cazuri şi între 8 şi 80 de ani (Furszyfer şi colab., 1972). Repartiţia după sex este de 9—17 femei la 1 bărbat (Mahaux şi colab., 1961).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul nr. 30

Incidența autoanticorpilor tiroidieni în diferite afecțiuni tiroidiene în raport cu vîrsta*

Grupa de vîrstă	10–19		20–29		30–39		40–49		50–59		60–69		Total		%
Rezultat	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv	negativ	pozitiv
Diagnostic															
Mixedem	—	6	3	2	5	11	17	10	22	18	11	9	58	56	50,87
Hipotiroidie	1	10	3	17	6	36	11	35	7	11	—	4	28	113	19,85
Gușă	7	35	1	16	12	41	12	47	2	23	6	7	40	169	19,13
Hipertiroidie	1	11	5	15	15	50	23	48	18	32	6	16	68	172	28,33
Basedow	9	8	7	13	15	15	3	18	5	25	2	4	41	83	33,06
Tiroidită acută și subacută	—	6	2	20	13	65	9	68	8	35	3	10	35	204	14,64
Tiroidită cronică	1	1	—	4	4	8	6	14	9	10	2	3	22	40	35,48
Cancer tiroidian	—	1	—	2	1	1	1	1	—	7	1	1	3	13	18,75
Nodul tiroidian	—	5	—	2	2	13	5	13	1	11	1	3	9	47	16,07
													304	897	25,31

* tehnica de hemaglutinare pasivă

Debutul trece adeseori neobservat, majoritatea bolnavilor ajungînd la medic după o evoluție de mai mulți ani. Alteori, boala debutează subacut ca în tiroidita de Quervain, cu diferența că se pot detecta autoanticorpi. Din acest punct de vedere s-a propus diferențierea a două forme de boală Hashimoto: una cu debut subacut și evoluție rapidă spre hipertiroidie și alta cu debut și evoluție oligosimptomatică sau în puseuri. Antecedentele nu conțin nimic special; boala nu pare legată de regiunile gușogene, dar cam 50% din bolnavi semnalează gușă înaintea altor simtome.

Examen clinic. Local, gușa difuză cu consistență fermă, elastică (de cauciuc), cu forma glandei păstrată, suprafața netedă, uneori lobulată, fără aderențe cu țesuturile vecine, nedureroasă la palpare. Semnele de compresiune sînt tardive, în general fără gravitate. Funcțional, bolnavii sînt în majoritate hipotiroidieni, putînd acoperi toată gama, de la hipotiroidita frustă pînă la mixedem. Sînt și cazuri cu eu- sau (mai rar) cu hipertiroidite. Au fost descrise cazuri în care gușa de tip Hashimoto a survenit după o hipertiroidie sau după boala Basedow, hiperfuncție care s-a amendat spontan, în absența tratamentului antitiroidian.

Coexistența cu alte boli autoimune. În ordinea descrescîndă a frecvenței, se întîlnesc asocieri cu următoarele boli autoimune endrocrine: boala Addison idiopatică și diabetul; sînt semnalate asociații cu hipoparatiroidismul idiopatic sau cu hipofizita; foarte rar pot apărea poliendocrinopatii autoimune. Dintre asociațiile cu boli autoimune neendocrine menționăm: anemia pernicioasă, LED, mult mai rar cu poliartrita reumatoidă, colita ulcerativă, purpura trombopenică idiopatică, ciroza biliară (Doniach și colab., 1963; Forcier și colab., 1972). Exceptînd LED și poliartrita reumatică, toate celelalte boli asociate (endocrine și neendocrine) sînt autoimune organospecifice.

Scanned with OKEN Scanner

Anatomie patologică. Macroscopic, tiroida este global mărită, uneori lobulată, putînd ajunge la de cîteva ori greutatea normală (care este de circa 30 g). Microscopia optică dezvăluie aspectul patologic omogen al tiroidei (glanda este în întregime modificată de procesul inflamator). Descrierea clasică menţionează :

1) Infiltraţie interstiţială difuză cu limfocite mici şi plasmotice, care invadează şi epiteliul glandular. Foliculi limfatici cu centri germinativi, cu semne de intensă activitate regenerativă pentru geneza de celule imunologic competente.

2) Parenchimul glandular este alcătuit din foliculi mici cu celule epitelioide cubice cu coloid redus şi din mase epiteliale compacte. Celula epitelială suferă fenomene de degenerescenţă caracterizate prin apariţia celulei eozinofile Hürthle, cunoscută şi sub numele de oncocit sau celulă Askanazy (1898). Sînt celule tiroidiene deosebit de mari, mai frecvent cubice, formînd acini mici cu conţinut redus de coloid. În pereţii foliculilor se mai observă, pe alocuri, celule clare, eozinofile, hialine, corespunzătoare aşa-ziselor celule Langendorff. Celulele Askanazy sînt considerate forme regresive, involutive sau epuizate ale epiteliului tiroidian ; aceasta ar explica prezenţa lor într-o varietate de boli tiroidiene. Radioiodocaptarea tiroidiană, normală la mulţi bolnavi, în a căror tiroidă epiteliul poate fi uneori aproape în totalitate de tip celulă Askanazy, sugerează că aceste celule mai păstrează o oarecare capacitate funcţională. Infiltraţia limfocitară este mult mai frecventă în bolile tiroidei decît transformarea de tip celulă Askanazy. S-au emis mai multe ipoteze asupra rolului lor în patologia tiroidiană. S-a sugerat, de exemplu, că ţesutul limfoid inactivează TSH, în care caz proliferarea limfocitară în tiroidă ar putea fi provocată de un exces al acestui hormon ; sau ar fi o reacţie banală de tip inflamator, produsă de acumularea tireoglobulinei în ţesutul interstiţial.

3) Coloidul este sărac, cromatic modificat, veziculele coloide fiind frecvent invadate de limfoplasmocite.

4) Ţesutul colagen este hiperplastic, dar relativ sărac în comparaţie cu infiltratul abundent cu celule rotunde.

Ultrastructura permite doar o diferenţiere vag cantitativă a tiroiditei Hashimoto de tiroidita cronică asimptomatică sau de guşa nodulară cu tiroidită în focar. Au fost descrise trei tipuri de modificări ale citoplasmei celulelor epiteliale (Neve, 1969) : mare abundenţă de mitocondrii structural modificate ; cisterne ergastoplasmice mari cu polizomi liberi ; zone hialoplasmice omogene extensive. Nucleii celulelor anormale sînt deseori neregulaţi, dar nu mai mari ca cei normali. Limfocitele şi plasmocitele ocupă fie spaţiul dintre capilare şi membrana bazală a foliculului, fie interiorul foliculului. Frecvent, prin fenomene de peripoleză şi de emperipoleză (Berceanu şi colab., 1969 ; Pulvertaft, 1961) aceste celule inflamatorii invadează celula epitelială, apărînd în interiorul citoplasmei acelor celule cu zone hialoplasmice mari şi omogene (Neve, 1969).

Biochimia serului. Deşi guşa limfomatoasă evoluează adesea clinic fără zgomot, analiza biochimică detectează modificări destul de importante. Cel mai frecvent se întîlneşte creşterea VSH, a gammaglobulinelor şi pozitivarea testelor „hepatice" de floculare (aur coloidal, timol, sulfat de Zn). Tiroidectomia ameliorează deseori modificările umorale, dar terapia prelungită cu hormoni tiroidieni nu pare să le influenţeze.

Scanned with OKEN Scanner

Imunochimia serului. Folosind tireoglobulina izolată din tiroide umane ca antigen, pot fi detectaţi anticorpi precipitanţi prin una din metodele clasice. Se întîlnesc rar şi, în general, atunci cînd titrul anticorpilor hemaglutinanţi este foarte crescut (peste 1 : 100 000); ei aparţin tuturor claselor de Ig, dar mai ales IgG (Torrigiani şi colab., 1963).

Autoanticorpii tiroidieni circulanţi se pot clasifica după antigen în 3 grupe : 1) *tireoglobulinici*, detectabili prin reacţii de precipitare, de hemaglutinare pasivă şi prin imunofluorescenţă; 2) *anti-antigen* CA_2 (al doilea antigen al coloidului tiroidian) evidenţiabili prin imunofluorescenţă; 3) *antimicrosomiali*, identificabili prin reacţia de fixare a complementului. În serul bolnavilor cu boala Hashimoto a fost demonstrat şi un *factor cu acţiune citotoxică*, evidenţiat *in vitro* în culturi de celule tiroidiene, în prezenţa complementului în exces. Rezultatele obţinute prin tehnica de imunofluorescenţă pe celule tiroidiene viabile şi prin tehnica de citotoxicitate mediată de complement (C′) pe culturi au sugerat existenţa unui antigen pe suprafaţa celulelor tiroidiene (Pulvertaft şi colab., 1961).

Un loc aparte în sistemele antigen — anticorp tiroidiene îl ocupă LATS („Long Acting Thyroid Stimulator"). Observat pentru prima oară în 1956 în serul bolnavilor cu hipertiroidie (Adams şi colab., 1956) şi individualizat în 1962 (McKenzie, 1962), LATS prezintă activitate „hormonală" calitativ asemănătoare cu a TSH, proprietăţile sale tireotrope exercitîndu-se însă independent de hipofiză. El este deosebit de TSH atît prin tardivitatea acţiunilor sale asupra tiroidei, cît şi prin perioada de înjumătăţire, care este de 7 1/2 ore pentru LATS şi de cîteva minute pentru TSH; serul anti-TSH nu reacţionează cu LATS. Activitatea LATS este localizată în fracţiunea gammaglobulinică şi anume în fragmentele Fac şi F(ab′), nu şi în Fc (cap. 4). Are afinitate specifică pentru citoplasma celulelor tiroidiene, pe cînd TSH se localizează în nucleu. Pare să existe o coincidenţă între structura moleculară hormonal-activă şi structura de tip anticorp. LATS se prezintă ca un autoanticorp dotat cu proprietatea de a provoca hiperplazie şi hiperfuncţie tiroidiană la contactul cu un antigen tiroidian specific prezent în fracţiunea microsomială a omogenatelor de tiroidă. Este neutralizat prin incubare cu un omogenat de tiroidă, fără consum de complement. Traversînd placenta, poate produce un hipertiroidism neonatal, care se ameliorează pe măsură ce IgG matern este catabolizat.

Autoanticorpii celulari (structurali) au fost observaţi în clinica umană şi la animalele de experienţă. Extractul de tiroide umane injectat intradermic la bolnavi cu tiroidită Hashimoto, produce eritem şi induraţie care atinge maximum la 24 de ore. Prezenţa autoanticorpilor circulanţi îngreuiază interpretarea acestor leziuni ca manifestări ale hipersensibilităţii de tip întîrziat (tuberculinic), putînd fi şi de tip Arthus. Discrepanţa dintre indicele de migrare a leucocitelor recoltate de la bolnavi cu Hashimoto în prezenţa antigenului tiroidian şi titrul autoanticorpilor circulanţi, ar putea fi o probă indirectă asupra existenţei anticorpilor citofili. Testele cutanate cu extracte tiroidiene la animale autoimunizate au fost considerate de tip întîrziat (Rose şi colab., 1965).

Funcţia tiroidiană. Pentru diagnosticul tiroiditei cronice este obligatorie corelarea probelor de laborator cu datele clinice, cu cele serologice şi cu biopsia tiroidei. La evaluarea probelor funcţionale se ţine seama de stadiul precoce sau tardiv al bolii.

Scanned with OKEN Scanner

Iodul intratiroidian : radioiodocaptarea este crescută în majoritatea cazurilor în fazele precoce, alteori poate fi normală sau scăzută. Cu toată varietatea de ripostă a constantelor biochimice ale funcţiei tiroidiene, pare să existe o corelaţie între golirea glandei de iod, modificările proteice din tiroidă şi din circulaţie şi evoluţia spre hipotiroidie a tiroiditelor cronice.

Homeostazia hormonilor tiroidieni : la stimularea cu TSH, frecvent radioiodocaptarea (RIC) nu creşte, dar se poate observa creşterea titrului de autoanticorpi tiroidieni sau pozitivarea unor reacţii serologice anterior negative. Proba de supresie cu T_3 (testul Werner) este utilă pentru a diferenţia tiroidita Hashimoto cu RIC crescută de o hipertiroidie (în hipertiroidie, RIC nu scade, deci feedback-ul este absent)). TSH seric a fost insuficient explorat. La persoane eutiroidiene normale, dozarea biologică dă valori de 2,3—18,1 mU/100 ml, iar dozarea radioimunologică detectează valori de 5,9—6,1 mU/ml. În tiroidita cronică, cele două metode dau valori de 5,6—37,0 mU/100 ml şi de 14,5—46,4 μU/ml respectiv ; valorile TSH cresc încă mai mult în cazurile cu evoluţie spre hipertiroidie : 1,9——37,6 mU/100 ml prin metoda biologică şi 40—160 μU/ml prin cea radioimunologică (Kirkham, 1970). Incidenţa prezenţei LATS la bolnavii cu tiroidită cronică cu autoanticorpi circulanţi depăşeşte incidenţa întîmplătoare.

Scintigrama tiroidiană cu ^{131}I sau cu ^{99}Tc aduce informaţii asupra funcţiei parenchimului glandular, arătînd o distribuţie uniformă a acumulării izotopului în cazul unui proces difuz. În asociaţie cu scintigrama cu ^{75}Se (selenometionina) permite diferenţierea de cancerul tiroidian necaptant. Scintigrama succesivă cu ^{131}I şi cu ^{75}Se-Selenometionină, corelată cu reacţiile serologice pentru autoanticorpi tiroidieni, cu PBI, cu biopsia tiroidiană şi cu rezultatul terapiei de supresie (imunologică şi hipofizară) ajută substanţial diagnosticul.

Etiologie şi patogenie. Factori predispozanţi la autoimunizarea tiroidiană : autoanticorpii tiroidieni se observă de cel puţin trei ori mai frecvent la bolnavii cu guşi coloide netoxice decît la restul populaţiei de aceeaşi vîrstă şi incidenţa lor este de şase ori mai mare la bolnavii cu tireotoxicoză. Cum guşile sînt mai frecvente la femei, aceste date pot explica parţial diferenţele de sex din boala Hashimoto.

Factori familiali şi ereditari : cunoştinţele noastre sînt încă foarte sumare. Cercetarea tabloului cromosomial la bolnavi nu a dat, deocamdată, rezultate clare.

Încă nu se poate preciza etiologia bolii Hashimoto şi nici nu se poate determina exact rolul autoanticorpilor.

Primele lucrări asupra bolii Hashimoto, ca boală imunitară, au pornit de la concepţia imunologică a lui Burnet ; ele au susţinut ipoteza antigenului sechestrat (tireoglobulina ar fi conţinută în foliculi „ermetici") şi, implicit, imposibilitatea instalării toleranţei imunologice. Studii detaliate (Assem şi colab., 1965 ; Hjort şi Pedersen, 1962) au arătat că tireoglobulina nu este complet sechestrată, că are acces la spaţiul extracelular din jurul foliculilor şi că părăsind glanda prin limfocitele tiroidiene ajunge la sînge unde atinge la normali concentraţii de aproximativ 10—50 ng/ml (Roitt, 1972). Concentraţiile de acest ordin de mărime ar produce la şoareci „zona de toleranţă scăzută", influenţînd probabil limfocitele „T". Prin analogie,

Scanned with OKEN Scanner

Roitt (1972) consideră că, la om, este posibilă o disociere a toleranţei : celulele „T" sînt tolerante la tireoglobulină, dar nu şi celulele „B". Pentru producerea autoanticorpilor, tireoglobulina umană (G.M. 650 000) dispune de numai patru determinanţi antigenici, care s-ar putea comporta mai mult ca haptene, în sensul că celulele „B" netolerante pot fi stimulate numai prin cooperarea celulelor „T". Întrucît celulele „T" sînt tolerante la tireoglobulină, limfocitele „B" nu vor mai fi activate în mod normal.

Trecerea spre pierderea toleranţei poate avea loc în multiple moduri. Pentru tireoglobulină au fost enunţate cîteva căi ipotetice.

1) *Modificarea moleculei*, care poate fi imaginată prin unul din mecanismele următoare :

a) Un *alt* transportor pentru determinantele potenţial antigenice, rezultat din modificări ale moleculei (de exemplu prin anomalii ale scindării lizozomale, ducînd la un produs de scindare cu demascarea de noi grupări antigenice) (Nakamura şi Weigle, 1967 ; Roitt, 1972 ; Weigle, 1965). Pe cale experimentală, s-a observat că fragmente mari ale tireoglobulinei, obţinute prin proteoliză, pot deveni autoantigenice chiar prin injectare fără adjuvant. Un astfel de mecanism n-a putut fi însă demonstrat la om.

b) Influenţele fizice exercitate asupra proteinelor la interfaţa apă — ulei din emulsia de adjuvant pot duce la alterări ale configuraţiei „porţiunilor transportoare" ale moleculelor în procedurile experimentale.

c) Combinaţia cu droguri nu pare să producă modificări ale tireoglubulinei, poate mai degrabă încărcarea variabilă cu iod.

2) *Perturbări imunologice ocazionale* : microorganismele ar putea scădea pragul de răspuns la un antigen, reducînd dependenţa celulelor „B" de cooperarea celulelor „T" (Roitt, 1972).

a) Anomalii ale sistemului limfoid : apariţia clonelor de limfocite autoreactive, „clone interzise" prin mutaţie somatică sau prin infecţia sistemului limfoid cu un virus (conform concepţiei lui Burch, 1968).

b) Efectele patogene ale anticorpilor umorali : serul provenit de la bolnavi cu boala Hashimoto este citotoxic în cultura monostrat în prezenţa complementului, vizînd antigenele de suprafaţă ale celulelor tiroidiene ; efectul nu a fost demonstrat *in vivo*. În experienţele de transfer pasiv, serul de iepure obţinut de la animale tiroidectomizate şi imunizate a produs leziuni tiroidiene la receptori numai atunci cînd a fost recoltat la începutul imunizării, fără a se putea stabili vreo corelaţie între titrul anticorpilor injectaţi şi gravitatea leziunilor.

c) Efectele patogene ale anticorpilor celulari : transferul anticorpilor celulari cu ajutorul broiatelor de splină sau de noduli limfatici de la animale donoare imunizate antitiroidian a produs leziuni asemănătoare tiroiditei la iepuri, cobai şi şobolani.

Natura agresiunii celulare în tiroidita imunologică nu este rezolvată şi pare verosimil să existe o cooperare a hipersensibilităţii mediată celular, a citotoxicităţii anticorpilor şi a reacţiei inflamatorii produsă de complexele antigen-anticorp.

Sistematizarea problematicii etiopatogeniei bolii Hashimoto evidenţiază :

1. Antigenicitatea tireoglobulinei nu mai poate fi pusă la îndoială, de subliniat este doar faptul că ea constituie un autoantigen. Reacţia

Scanned with OKEN Scanner

organismului la o revărsare de coloid tireoglobulinic nu este numai umorală, ci şi localcelulară : un aflux chimiotactic de celule rotunde. Anticorpii *antitireoglobulinici* pot perturba organificarea iodului în cursul biosintezei hormonale (Milcu şi colab., 1966). Prezenţa anticorpilor împotriva componentelor *celulare* ale tiroidei semnalează un proces de disrupţie celulară. Conceptul de *coeficient de autoagresiune* a fost propus pentru a desemna coparticiparea factorilor imunologici în constituirea sau în evoluţia procesului morbid (Simionescu şi Săhleanu, 1968). În experienţe pe culturi de ţesut tiroidian s-a observat că anticorpii pot fi — în funcţie de concentraţie — stimulatori, inhibitori funcţional, inhibitori proliferativ, citolitici (Milcu şi colab., 1966). Dar nu numai *agentul* trebuie luat în considerare, ci şi *terenul* receptiv, adică celula afectată. Leziunile toxice produse *in vitro* asupra unor celule depind de impregnarea lor cu tiroxină. Experienţe *in vivo* (Milcu, 1967) au arătat că, în condiţii de stimulare tireotropă, ţesutul tiroidian este mai expus modificărilor de tip tiroidită imună, cu condiţia ca celulele să fie funcţionale şi să producă hormoni iodaţi ; în tiroida blocată cu antitiroidiene de sinteză, asemenea leziuni apar mai greu.

2. Hormonul tireotrop hipofizar este principalul reglator umoral al tiroidei. Hipofiza, centrii nervoşi superiori şi tiroida sînt înglobaţi într-o reţea biocibernetică în care se împletesc *feed-back*-uri negative şi pozitive (fig. 27). În mod curent ţinem seama de autoreglarea secretorie şi proliferativă prin feed-back negativ. Scoaterea din funcţiune, progresivă, a parenchimului tiroidian antrenează şi hipersecreţie tireotropă, care sensibilizează celula tiroidiană la factorii nocivi imunologici. Pe de altă parte, suprasolicitarea apropie celula de o necrobioză prin epuizare.

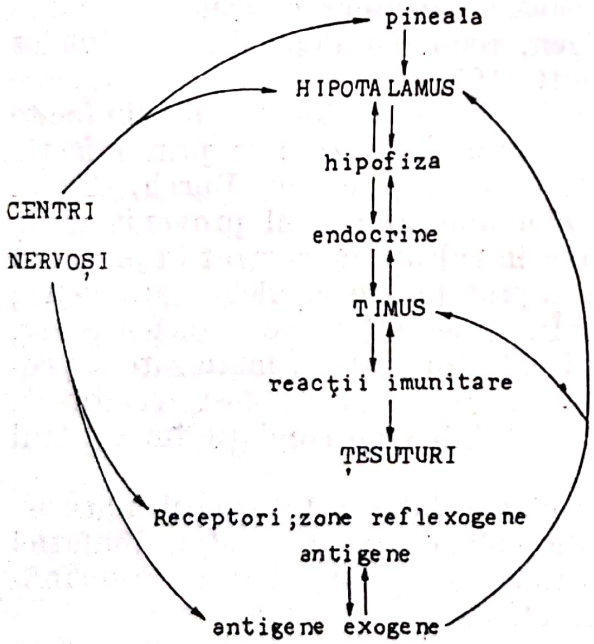


Fig. 27. — Interacţiuni ale sistemelor de reglare : nervos, endocrin şi imunitar.

Autoanticorpii ar putea constitui un sistem fiziologic de autoreglare prin proteine organo- şi histospecifice, între autoreglare şi autoagresiune, diferenţa ar putea fi numai de grad. Voisin (1971) argumentează cu date experimentale ipoteza că ţesuturile normale autologe *in situ* ar putea fi supuse nu numai agresiunii reacţiilor autoimunitare, ci şi acţiunii protectoare a facilitării imunologice, pe care o consideră analogă fenomenului de „enhancement".

3. Ceea ce se petrece pe plan umoral are corespondent şi pe plan tisular. Ce rol poate avea limfocitul ?

Cultivînd împreună limfocite cu celule tiroidiene s-a constatat uneori o stimulare a proliferării tireocitelor. Dacă limfocitele provin de la un animal imunizat antitiroidian, efectul este invers (Milcu şi colab., 1959). Această experienţă sugerează rolul *reglator* al limfocitului celulelor parenchimatoase.

Scanned with OKEN Scanner

4. Dacă renunţăm la identificarea autoagresiunii cu nocivitatea, dacă investigăm eventualele valenţe utile ale autoagresiunii, mecanismele imunologice pot fi încadrate şi printre mecanismele de autovindecare. Morfopatologii au constatat mai de mult că unele stări hiperfuncţionale ale tiroidei se sting, ca şi cum ar fi ars un material combustibil. Procesele de autovindecare includ infiltraţia limfoidă şi scleroza.

Subordonarea tiroidei bolnave la dubla reglare (tireotropă şi imunologică) duce în cursul evoluţiei bolii la fluctuaţii funcţionale în plus şi în minus de-a lungul curbei descendente. Unele cazuri de boală Hashimoto pot fi reacţii excesive de autovindecare la un episod hiperfuncţional. Anticorpi antitiroidieni se întîlnesc într-un semnificativ procent de cazuri, în cursul hipertiroidiei, guşii, tiroiditelor subacute ; dar numai în tiroidita Hashimoto şi în mixedemul care-i urmează, titrul este atît de mare (diferenţe de 3—6 ordine de mărime).

5. În ultimul deceniu, Burch (1968) a adus argumente statistico-matematice, de ordin epidemiologic, în sprijinul ideii după care îmbătrînirea fiziologică a organelor are la bază un proces autoagresiv. Atunci boala Hashimoto ar putea fi o senescenţă precoce monoglandulară.

Pe această reţea de ipoteze şi de interpretări, semnificaţia tratamentelor poate fi reexaminată. De exemplu, administrarea de hormoni tiroidieni nu mai este un simplu tratament de substituţie în favoarea organismului supus stării de hipotiroidism progresiv. Aceşti hormoni intervin şi la nivelul celulelor tiroidiene, hipofizare, timice şi limfatice. Este de aşteptat ca dozările radioimunologice de hormon tireotrop, împreună cu titrările de anticorpi antitiroidieni în decursul evoluţiei bolii, să trieze o parte din ipotezele enunţate sau să sugereze altele.

Diagnostic. Au fost propuse mai multe criterii clinice şi de laborator, pentru diagnostic. Principalele criterii cu care operează medicul clinician sînt : guşă cu consistenţă de cauciuc, cu sau fără hipotiroidie ; mixedem fără guşă ; teste de floculare pozitive ; reacţii serologice cu extracte tiroidiene pozitive ; iodocaptarea tiroidiană crescută, normală sau scăzută, dar cu creşterea radioactivităţii legate organic în plasmă (PBRI) ; scintigrafie cu ^{131}I uniformă combinată cu scintigrafia cu ^{75}Se-Selenometionină cu distribuţie caracteristică în zonele de infiltraţie limfoplasmocitară ; discrepanţa PBI-EBI ; testul de perclorat pozitiv ; aspecte histologice tipice.

Pentru precizarea diagnosticului, adesea este suficientă coroborarea a 2—4 din aceste criterii, ca de exemplu reacţii serologice pozitive, discrepanţa PBI-EBI şi scintigrafia succesivă cu ^{131}I şi cu ^{75}Se-Selenometionină.

Tratament. Atitudinea terapeutică este orientată de examenul clinic şi de laborator şi vizează : corectarea stării hipo- sau de hiperfuncţie tiroidiană, inhibiţia stimulului hipofizar tireotrop, reducerea procesului inflamator, înlăturarea compresiunii şi a eventualelor complicaţii paratiroidiene.

În prezenţa hipotiroidiei se administrează hormoni tiroidieni : extractul total sau L-tiroxină ; pentru corectarea hipertiroidiei se administrează agenţi blocanţi. Procesul inflamator este tratat prin administrare de agenţi antiinflamatori, cel mai des folosit este cortizonul, care este şi imunosupresor. Acest tratament este eficace cam în 90% din cazuri (Hei-

Scanned with OKEN Scanner

man, 1970; Jeske şi Gorowski, 1971). Tiroidita Hashimoto, fiind boală cronică progresivă, este necesar ca bolnavii să ia tiroidă tot restul vieţii.

Imunosupresia cu ser antilimfocitar implică riscuri în etapa actuală (Păun şi colab., 1972) şi, dealtfel, în tiroidita experimentală la şobolan nu a avut efect asupra anticorpilor antitireoglobulinici.

Tratamentul chirurgical, constînd din tiroidectomie subtotală bilaterală, este recomandabil numai cînd tratamentul cu hormoni tiroidieni şi agenţi antiinflamatori n-a dat rezultate, cînd sînt semne de compresiune mecanică sau cînd sînt prezente complicaţii paratiroidiene. Intervenţia operatorie este indicată de asemenea ori de cîte ori se suspectează malignizarea; în funcţie de prezenţa acestui proces se decide modalitatea de exereză.

Chirurgul este interesat să fie informat asupra prezenţei unui proces autoimunitar tiroidian şi în alte boli tiroidiene (clasificate ca boli tiroidiene cu coeficient autoimunitar), pentru a stabili gradul de exereză glandulară, de exemplu în boala Basedow sau în guşa hipertiroidizată etc.

B. SUPRARENALITA IMUNOLOGICĂ

Studiul antigenului microsomial tiroidian a reprezentat un model pentru izolarea şi studiul caracteristicilor bio- şi imunochimice ale altor antigene tisulare insolubile.

S-a sugerat că *boala Addison idiopatică* s-ar datora unui proces autoimunitar cu distrucţia glandei suprarenale. Au fost observaţi anticorpi fixatori de complement pentru ţesutul suprarenal la unii bolnavi cu boala Addison (Irvine şi colab., 1968) şi au fost obţinute adrenalite experimentale şi anticorpi antisuprarenali circulanţi la animale injectate cu extract de suprarenală înglobat în adjuvant Freund, fără a se putea obţine atrofii marcate ale suprarenalei (Andrada şi colab., 1969; Levine şi Wenk, 1968; Milcu şi colab., 1959). Adrenalita alergică obţinută la şobolan a putut fi transferată cu ajutorul suspensiilor de limfocite imune din nodulii limfatici.

Tehnica imunofluorescenţei a permis să se stabilească incidenţa anticorpilor antisuprarenali în serul bolnavilor cu Addison; frecvenţa lor este de 40—66%, titrurile sînt însă de multe ori, la limita validităţii ţinînd seama că reacţii slab pozitive se pot obţine şi la unii „normali".

Serurile pozitive prezintă unele particularităţi ale specificităţii, care se evidenţiază prin reacţii încrucişate variabile de la un ser la altul. Unele seruri reacţionează cu citoplasma celulelor zonei fasciculate şi reticulate, altele reacţionează în special cu zona glomerulară, iar altele colorează şi celulele interstiţiale ale ovarului. În plus, unele seruri nu colorează citoplasma, ci nucleul acestor zone (Irvine şi colab., 1968). Toate zonele vizate de autoanticorpii antisuprarenali reprezintă localizarea celulelor producătoare de steroizi, cortizol, testosteron, estrogeni şi precursori ai lor.

Antigenele suprarenalei (două mai bine studiate) sînt lipoproteine asociate probabil cu hidraţi de carbon şi sînt prezente în fracţiunea microsomială. Proprietăţile lor sînt asemănătoare cu ale antigenelor organospe-

Scanned with OKEN Scanner

cifice tiroidiene și cu ale celulelor parietale gastrice, dar diferă de acestea (și între ele) prin susceptibilitatea lor la unele distrucții prin enzime proteolitice (alfa-chemo-tripsină) sau la diferite tratamente chimice. Autoanticorpii antisuprarenali sînt dominant de tip IgG (Irvine și colab., 1968).

S-a emis ipoteza (insuficient verificată) că unele seruri ar reacționa cu mai multe țesuturi producătoare de steroizi ca rezultat al sensibilizării prin administrarea terapeutică de steroizi care ar acționa ca haptene (Irvine și colab., 1968).

Au fost descrise cazuri de boală Addison familială asociată cu hipoparatiroidia, anemia pernicioasă și moniliaza.

Boala Addison este o entitate nosologică destul de rară. Printre cauzele posibile au fost incluse : procese distructive ale suprarenalei prin hemoragie, infecții (tuberculoză, histoplasmoză) micoză, tumori metastatice, erori înnăscute ale biosintezei steroizilor, scăderea secreției de ACTH, procese autoimunitare în glanda suprarenală. Erorile înnăscute ale biosintezei steroizilor nu duc însă la atrofii, ci la hiperplazii suprarenale secundare stimulării prin ACTH. La bolnavii cu boala Addison idiopatică se observă deseori procese autoimunitare tiroidiene traduse clinic prin hipotiroidie și prin semne histologice de boală Hashimoto.

C. INSUFICIENȚA OVARIANĂ IMUNĂ

Ovarul conține cel puțin trei antigene, iar lichidul folicular cel puțin patru. Există o comunitate antigenică între un antigen folicular și unul ovarian, antigenele ovariene prezentînd comunitate antigenică cu constituenți ai ficatului, splinei, colonului, rinichiului, plămînului și cu mușchiul uterin. Din 77 de bolnave cu insuficiență corticosuprarenală idiopatică, 40 au prezentat anticorpi antisuprarenali prin TIF și RFC (reacția de fixare a complementului), iar dintre acestea 5 au prezentat și anticorpi antiovar (Irvine și colab., 1968).

Granulațiile fluorescente cu serurile pozitive apar în diverse țesuturi care sintetizează hormoni steroizi, arătînd că există antigene comune în CSR, teaca internă a ovarului, celulele interstițiale ale ovarului și ale testicului și în trofoblastul placentar. Toate aceste antigene sînt prezente și în CSR.

Antigenele sînt legate probabil de enzimele implicate în diverse căi metabolice ale sintezei steroizilor : antigenul poate, în funcție de natura enzimei, să aparțină unui țesut sau mai multor țesuturi producătoare de steroizi.

Studiile de absorbție încrucișată cu extracte de CSR sau de testicul au dat rezultate diferite cu diferitele seruri antiovar. Oricum, în reacția cu celule producătoare de steroizi este implicat mai mult de un anticorp, dar toate antigenele corespunzătoare sînt reprezentate și în CSR. Aceste observații serologice și imuno-histochimice, precum și asocierea cu insuficiența suprarenală, sugerează o bază autoimunitară în *insuficiența ovariană prematură.*

Scanned with OKEN Scanner

D. HIPOPARATIROIDISMUL IDIOPATIC

În 38% din cazurile cu hipoparatiroidism idiopatic s-au observat autoanticorpi, comparativ cu frecvența de 6% în populația normală. Autoanticorpii antiparatiroidieni nu reacționează cu hormonul paratiroidian și nici nu dau reacții încrucișate cu alte țesuturi glandulare sau neglandulare. Unele adenoame paratiroidiene nu au dat reacții pozitive cu autoanticorpii prin TIP (Berceanu și colab., 1969).

Clinic, au fost descrise asocieri ale anemiei pernicioase cu hipoparatiroidism cu autoanticorpi antiparatiroidă (Blizzard și colab., 1966).

E. HIPOFIZITA AUTOIMUNĂ

Prin rolul său fiziologic, un proces autoimunitar în hipofiză ar putea determina o „poliendocrinopatie" (Egloff și colab., 1969).

Au fost descrise infiltrații limfocitare în hipofiza bolnavilor cu boala Addison și s-a demonstrat activitatea anticorp, organospecifică în serul a 18% din femei la 7 zile postpartum și într-un caz de sindrom Sheehan care dura de 5 ani. Sînt descrise și asocieri ale bolii Hashimoto cu hipofizită caracterizate prin micșorarea de volum a adenohipofizei cu importante infiltrații limfoplasmocitare în focar și difuze (Goudie, 1968).

Nu s-a putut stabili rolul patogen al autoanticorpilor demonstrați prin tehnica de hemaglutinare pasivă, prin RFC și prin TIF. Au mai fost descriși și anticorpi iatrogeni la bolnavii cu diabet insipid, care prizau pulberi de hipofiză posterioară eterologă. Anticorpii formați au reacționat și cu antigene din hipofiza umană *in vitro*.

F. DIABETUL ZAHARAT

O altă situație patologică în care intervine fenomenul imunologic legat de o moleculă hormonal activă este imunodiabetul; deosebim trei tipuri principale: experimental (realizat prin inocularea broiatului de pancreas), spontan și secundar (o complicație a terapiei cu insulină eterologă) (Berson, 1966; Grodsky, 1964).

Imunodiabetul postinsulină eterologă este incriminat în patogenia modificărilor vasculare din diabetul zaharat. Deși există o importantă înrudire antigenică între insulina umană și cea bovină sau mai ales porcină (ambele folosite curent în terapie), totuși un procent deloc neglijabil dintre bolnavii tratați prezintă anticorpi antiinsulină. Rezultatul, sub aspectul implicațiilor în terapia cu insulină, este fie o „hiposensibilitate" cînd doza de compensare nu trece de 150 IU/24 ore, fie o „rezistență" cînd doza de insulină trece de 200 IU/24 de ore.

Titrurile serice ale anticorpilor antiinsulinici sînt mici și metodele cele mai sensibile pentru detectarea lor sînt metodele radioimunologice (Berson, 1966).

Scanned with OKEN Scanner

Coincidența anticorpilor antiinsulină cu autoanticorpi antitireoglobulină nu este rară, coincidență care solicită și alte interpretări patogenice în afara celor menționate.

G. STERILITATEA MASCULINĂ PRIN AUTOSPERMAGLUTININE

Principalele aspecte studiate includ : observațiile clinice și serologice la om, rolul proceselor autoimunitare și determinismul sterilității masculine prin modele experimentale și, legat de aceasta, precizarea și caracterizarea imunochimică a componentelor antigenice din diferitele țesuturi care alcătuiesc tractul genital masculin.

Examenul anumitor parametri morfologici și funcționali în cazurile de sterilitate la bărbat a dus la observația că produsul de ejaculare conține, în unele cazuri, un număr important de spermatozoizi imobilizați și aglutinați, ceea ce a dus la cercetarea prezenței spermaglutininelor (SA).

Studiile la om, printr-o tehnică de aglutinare macroscopică, la 2 015 bărbați cu sterilitate, au pus în evidență SA în ser cu titruri de 1/32 sau mai mari la 67 de bolnavi (3,3%); din 416 bărbați fecunzi, numai 4 (0,9%) au avut SA cu titruri de 1/4—1/16. SA sînt prezente și în ser (unde titrul este mai mare) și în plasma seminală (Rumke, 1968). Menționăm că au fost observate SA și în serul unor femei sterile (Glass și Vaidyar, 1970).

Natura SA este controversată : sînt autori care le consideră IgG (rareori IgM), iar alți autori le consideră proteine cu mobilitatea beta-globulinelor.

Cercetările *in vitro* și *in vivo* arată că spermatozoizii aglutinați sînt incapabili să străbată mucusul cervical : conglomeratele prelevate din vagin pot conține spermă vie, pe cînd în mucusul cervical nu se observă spermatozoizi. Un amestec de spermă normală cu ser sau cu plasmă seminală care conține SA evidențiază diferite tipuri de spermaglutinare : cap la cap cu coada ușor curbată, rareori liberă ; coadă la coadă cu afectarea capului cozii sau a porțiunii mijlocii, iar alteori aspecte mixte.

În antecedentele celor 64 de bolnavi, cu SA pozitive, din cazuistica Rumke (1968), numai 50% au avut boli infecțioase, intervenții chirurgicale sau traumatisme accidentale în sfera genitală. Din aceștia, aproximativ jumătate au prezentat anomalii ale epididimului sau ale vaselor deferente, cu semne de obstrucție uni- sau bilaterală.

Procesul patogenic a fost imaginat în felul următor : obstrucția canalelor deferente duce la spermostază și la extravazarea spermei în epididim. Prezența spermei în țesutul interstițial al epididimului atrage infiltrația cu macrofage, limfocite și plasmocite ; anticorpii ar prepara spermatozoizii pentru fagocitoză (Rumke, 1968). S-a susținut că resorbția spermatozoizilor este destul de frecventă la bătrîni și în cazurile de epididimită.

Spermatozoizii fac parte din categoria constituenților organismului care devin autoantigene în starea lor nativă, nealterată, numai prin simpla modificare a stării lor fiziologice de antigene sechestrate.

Scanned with OKEN Scanner

SA nu influenţează spermatogeneza şi nici funcţia testiculului, biopsiile testiculare sînt normale la majoritatea bolnavilor cu SA în ser. Sterilitatea apare astfel ca o rezultantă a acţiunii directe a autoanticorpilor asupra spermatozoizilor. Fecundarea nu se observă nici după mulţi ani, indiferent dacă sperma este total sau numai parţial aglutinată. Este posibil că există şi alte tipuri de autoanticorpi antispermă, ţinînd seama că mulţi bolnavi cu spermă extravazată şi cu infiltraţie cu mononucleare nu au SA în ser.

Prezenţa anticorpilor SA în plasma seminală pare inexplicabilă: s-au descris în lichidul spermatic numai urme de gammaglobuline şi, cu toate acestea, uneori, titrurile aglutininelor sînt similare celor din serul bolnavilor. Posibil să fie şi de altă natură (Boettcher şi colab., 1971). Se afirmă cu probabilitate că anticorpii din plasma seminală sînt produşi în nodulii limfatici regionali sau în celulele plasmatice din infiltratul limfoplasmocitar.

Rămîne încă necunoscut rolul SA în sterilitate, întrucît un număr mare de spermatozoizi îşi păstrează caracterele de mobilitate şi de viabilitate, iar morfologia este aparent normală.

Ipoteza extravazării lichidului seminal implică în mod necesar un proces anatomic evidenţiabil pentru ca antigenul — spermatozoidul normal — să piardă localizarea sa fiziologică şi să incite proliferarea clonelor cu rol specific. Cu toate acestea, absenţa trecutului de leziune şi biopsia normală la foarte mulţi bolnavi schimbă orientarea ipotezelor. Există şi posibilitatea unei predispoziţii pentru un răspuns imunologic aberant sau ar putea fi implicată ereditatea.

Modelele *experimentale* pot aduce multe clarificări în domeniul etiopatogeniei sterilităţii masculine prin autoanticorpi. Orhita experimentală obţinută prin injectarea de spermatozoizi, omogenate sau extracte de testicul, cu sau fără adjuvant, se caracterizează prin exfolierea centrifugă a celulelor germinate din tubii seminiferi şi prin infiltrat perivascular şi mezenchimal cu celule rotunde (Andrada şi colab., 1969; Freund şi colab., 1955; Voisin, 1971).

Voisin (1971) argumentează, cu date experimentale, intervenţia unui fenomen de „facilitare" activă în obţinerea orhitelor experimentale prin inocularea antigenelor din tractul genital. Omogenatele testiculare injectate cu emulsii în adjuvant induc hipersensibilitatea întîrziată şi anticorpi circulanţi, pe cînd în absenţa adjuvantului apar numai anticorpi circulanţi cu rol protector faţă de acţiunea citotoxică a anticorpilor obţinuţi cu ajutorul adjuvantului.

S-a experimentat şi prevenirea pasivă a orhitei imunologice („facilitare" pasivă) cu ajutorul serului de la animale imunizate (Voisin, 1971).

BIBLIOGRAFIE

Adams D. D., Purves H. D., Proc. Univ. Otago Med. School., 1956, 34, 11.

Andrada J. A., Andrada E. C., Witebsky E., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 130, 1 106.

Askanazy M., Dtsch. Arch. klin. Med., 1898, 61, 118.

Assem E. S. K., Trotter W. R., Belyavin G., Immunol., 1965, 9, 21.

Berceanu Şt., Gociu M., Răileanu-Moţoiu I., *Biologia celulelor sistemului limfo-reticulo-hematopoetic în culturi de ţesuturi*, Edit. Academiei, Bucureşti, 1969.

Berson S. A., Yalow R. S., Amer. J. Med., 1966, **40**, 676.
Blizzard R. M., Chee D., Davis W., Clin. Exp. Immunol., 1966, **1**, 119.
Boettcher B., Kay D. J., Rumke P., Wright L. E., Biol. Reprod., 1971, **5**, 236.
Burch P.R.J., *An inquiry concerning growth disease and ageing*, Edit. Oliver and Boyd, Edinburgh, 1968.
Burnet F. M., Science, 1961, **133**, 307.
Burns W. E. Jr., Thomas C. G., Jr., Amer. Surg., 1972, **38**, 35.
Doniach D., Roitt I. M., Taylor K. B., Brit. med. J., 1963, **1**, 1 374.
Egloff B., Fischbacher W., Goumoens E. (Von), Schweiz. med. Wschr., 1969, **99**, 1 499.
Forcier J. R., Mc Intyre O. R., Frey W. G., Andrada J. A., Streiff R. S., Arch. Intern. Med., 1972, **129**, 638.
Freund J., Thompson G. E., Lipton M. M., J. exp. Med., 1955, **101**, 591.
Furszyfer J., Kurland L. T., McConahey W. M., Woolner L. B., Elveback L. R., Metab., 1972, **21**, 197.
Glass R. H., Vaidyar A., Fertil. Steril., 1970, **21**, 657.
Goudie R. B., Proc. Roy. Soc. Med., 1968, **61**, 275.
Grodsky G. M., J. clin. Invest., 1964, **43**, 1 292.
Hashimoto H., Langerberke Arch. klin. Chir., 1912, **97**, 219.
Heiman P., Acta med. Scand., 1970, **187**, 323.
Hjort T., Pedersen G. T., Lancet, 1962, **2**, 259.
Irvine W. J., Chan M. M. W., Scarth L., Kolb F. O., Hartog M., Baylise R. I. S., Drury M., Lancet, 1968, **2**, 883.
Jeske W., Gorowski I., Arch. Med. Wewn., 1971, **47**, 493.
Kirkham K. E., Hunter W. M., Jeffery F. H., Bennie J. G., în Proc. Symp. *In vitro procedures with radioisotopes in medicine*, IAEA, Viena, 1970, p. 597.
Levine S., Wenk E. J., Amer. J. Path., 1968, **52**, 41.
Mahaux J., De Paepe J., Nauts J. P., Lancet, 1961, **2**, 350.
McKenzie J. M., J. Biol. Chem., 1962, **237**, 3 571.
Milcu Șt. M., Pop A., Lupulescu A., Țaga M., Ann. Endocr., 1959, **20**, 799.
Milcu Șt. M., Holban R., Săhleanu V., Simionescu L., Rev. Roum. Endocr., 1966, **3**, 117.
Milcu Șt. M., *Endocrinologie clinică*, Edit. medicală, București, 1967.
Nakamura R. M., Weigie W. O., J. Immunol., 1967, **99**, 357.
Negoescu I., Constantinescu A., Heltianu C., *Biochimia hormonilor tiroidieni*, Edit. Academiei, București, 1971.
Neve P., Virchows Arch. Abt. A. path. Anat., 1969, **346**, 302.
Păun R., Ursea N., Luca N., Coculescu M., Luca R., *Terapia imunosupresivă*, Edit. Academiei, București, 1972.
Pulvertaft R. J. V., Doniach D., Roitt I. M., Brit. J. exp. Path., 1961, **42**, 496.
Roitt I. M., Doniach D., Campbell P. N., Hudson R. V., Lancet, 1956, **2**, 820.
Roitt I. M., *Essential Immunology*, Blackwell Sci. Publ., Londra, ed. a 2-a, 1972.
Rose N. R., Kite J. H. Jr., Doebbler T. K., Spier R., Skelton F. B., Witebsky E., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, **124**, 201.
Rumke P., Proc. roy. Soc. Med., 1968, **61**, 275.
Simionescu L., Săhleanu V., St. cerc. endocrinol., 1968, **19**, 321.
Simionescu L., Săhleanu V., Rev. Roum. endocr., 1973, **10**, 2, 121.
Torrigiani G., Roitt I. M., Doniach D., Clin. exp. Immunol., 1963, **3**, 621.
Voisin G. A., Progress in Alergy, 1971, **15**, 328.
Weigle W. O., J. exp. Med., 1965, **122**, 1 049.

Scanned with OKEN Scanner

16. MECANISME IMUNOPATOLOGICE ÎN BOLILE NERVOASE DEMIELINIZANTE

ŞT. BERCEANU

A. INTRODUCERE, CLASIFICARE, CARACTERIZARE

Dintre bolile neurologice cu etiopatogenie puţin cunoscută, există o grupă în care leziunea comună este procesul de demielinizare. Ca leziune predominantă, demielinizarea se întîlneşte în scleroza multiplă; în alte afecţiuni ca encefalopatia acută hemoragică şi encefalomielita acută diseminată, panencefalita cronică sclerozantă, demielinizarea este destul de redusă în prima şi moderată în celelalte, în toate predominînd leziunile de infiltraţie inflamatorie perivasculară.

După Paterson (1965) există toate formele de trecere care fac legătura între encefalomielita acută postvaccinală şi encefalopatia acută hemoragică, cu evoluţie acută, şi scleroza în plăci cu evoluţie cronică.

După cercetări mai recente, panencefalita subacută sclerozantă apare printr-o dereglare imună specială, prin infecţie cronică cu virus de rujeolă (Burnet, 1968). În tabelul nr. 31 se urmăreşte relaţia clinico-morfo-

Tabelul nr. 31

Spectrul şi interrelaţii e bolilor demielinizante (după Paterson, 1965)

Forme de boală	Encefalopatie acută hemoragică	Encefalomielită acută diseminată prin vaccin rabic sau postinfecţii virale	Scleroză multiplă
Tip de boală	explozivă	acută	cronică (sau subacută)
Durata	ore sau zile	zile sau ani	săptămîni sau ani
Tip de leziune	locală şi diseminată perivascular	focală, diseminată perivascular şi periventricular	focală sau în plăci dispersate, perivasculară, periventriculară
Tipul de celule din leziuni	hematii, celule polimorfonucleare	celule monocelulare histiocite	foarte puţine celule mononucleare şi histiocite
Distrugerea de mielină	de la ± la +	de la + la ++	de la ++ la +++
Leziunile axonului şi celulei nervoase	±	±	±
Proliferare de astrocite	±	+	de la ++ la +++
Evoluţie	deces	remisiune	recidivă, boală progresivă pentru 20—25 ani

logică evolutivă, dintre cele trei entităţi majore demielinizante. Fiecare poate să apară izolat cu debut propriu, dar există şi posibilitatea de transformare a uneia în alta. O poziţie medie o are encefalomielita acută diseminată de etiologie postvaccinală sau virotică.

Scanned with OKEN Scanner

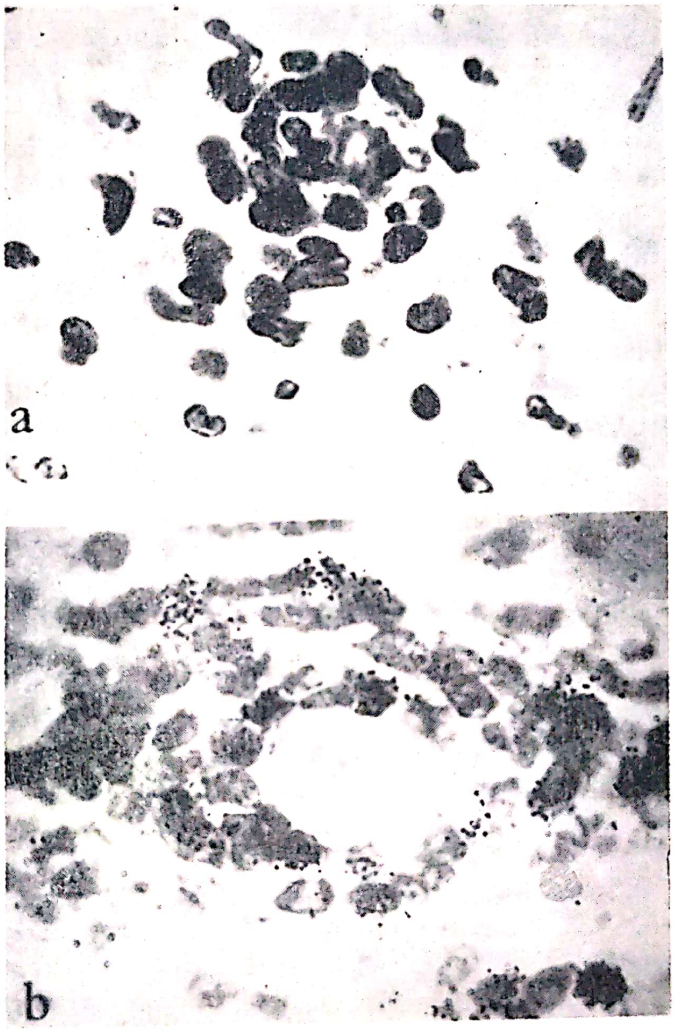


Fig. 28. — Infiltrate limfoplasmocitare (a) cu încorporare de timidină tritiată (b) în leziune de encefalomielită experimentală (după (Waksman, 1965).

Scanned with OKEN Scanner

Caractere imunoalergice generale. Din punct de vedere imunoclinic, cele trei boli demielinizante se pot caracteriza astfel :

1) *Encefalopatia acută hemoragică sau leucoencefalopatia acută necrotizantă hemoragică* începe cu unele prodroame de infecţie a căilor respiratorii superioare, după care urmează simptome explozive : febră mare, cefalee, prostraţie şi comă. Pot apărea mono-şi hemiplegii, semne de insuficienţă medulară cu colaps cardiorespirator. În unele cazuri se distinge predominanţa tulburărilor acute cerebrale, iar în altele medulobulbare. Moartea se poate produce chiar în primele 24 de ore, cu supravieţuiri posibile pînă la o săptămînă. Există cazuri rare, vindecabile, în care însă pot să survină recăderi grave.

2) *Encefalomielita acută diseminată* apare în condiţii speciale care ajută diagnosticul bolii. Etiologia caracteristică este vaccinarea antirabică. După introducerea acestei vaccinări de către Pasteur, în 1885, s-au descris primele cazuri de paralizie postvaccinală. În prezent există multe statistici care arată frecvenţa sa după vaccinare; după date mai vechi, aceasta ar fi de $0{,}28^0/_{00}$. După introducerea metodei Sample, cu virus omorît prin formol, incidenţa după vaccinare a rămas de 1/1000 — 1/4000. Incidenţa creşte cu doza de vaccin administrată şi este dependentă de calea de administrare, fiind mai mare după injecţiile subcutanate şi mai mică după cele intracutanate. După date mai noi, frecvenţa formelor cerebrale a scăzut pînă la zero.

Simptomele clinice apar la 4—15 zile de la prima injecţie antirabică. Primele semne sînt locale, cu erupţie de tip anafilactic la locul injecţiei; de multe ori apar chiar manifestări alergice generalizate. Simptomele nervoase sînt de tip periferic spinal, meningeal şi cerebral.

Debutul poate să fie acut, cu semne de encefalomielită. La 1/3 din cazuri se produce o evoluţie spre paralizia ascendentă Landry, care poate duce la paralizia respiratorie şi vasculară. În formele după vaccinarea antivariolică, simptomele apar după o perioadă de latenţă de 10—13 zile. Există forme etiologice speciale, care apar în cadrul febrelor eruptive în general la 1—3 zile de la debut, ca în rujeolă. Sînt de obicei grave, bolnavul sucombînd prin comă centrală, prin convulsii şi paralizii, cu insuficienţă cardiorespiratorie de origine medulobulbară. Mortalitatea este în jur de 20% pentru bolile virale şi 50% pentru cele postvaccinale. Există vindecări complete dar şi forme cu remisiuni dificile şi recăderi. Acestea pot să evolueze spre scleroza multiplă.

3) *Scleroza în plăci* (scleroza multiplă) are o etiologie nesigură; prin simptomele generale cu perioade febrile se poate bănui o infecţie virală sau bacteriană cu episoade alergice. Are un caracter familial, fără o determinantă genetică precisă.

Simptomele clinice apar insidios; mai rar există o instalare bruscă bine caracterizată. Evoluţia apare apoi continuă, cu remisiuni şi recăderi. În cele mai multe cazuri, debutul este cu tulburări motorii şi alterarea reflexelor; concomitent apar tulburări senzoriale ale văzului şi pipăitului. Atingerea nervilor cranieni se relevă prin diplopie, paralizie oculomotorie, nevralgie trigemică, paralizii faciale. Evoluţia este sistemică, cu manifestări complexe, consecinţă a demielinizării substanţei albe din compartimentele principale ale nevraxului.

Scanned with OKEN Scanner

Prin comparaţie cu polinevrita experimentală demielinizantă autoimună, se atribuie un mecanism autoimun şi polinevritei sau polineuropatiei demielinizante. Forma tipică febrilă o constituie sindromul Guillain-Barré, care apare după o infecţie microbiană sau virală, evoluînd în cîteva zile sau o săptămînă; se poate vindeca sau se poate croniciza cu recăderi şi remisiuni. În forma de poliradiculonevrită se prind ascendent rădăcinile spinale şi apoi măduva, putînd evolua spre sindromul de paralizie Landry.

B. ANATOMIE PATOLOGICĂ

În cele 3 afecţiuni, leziunile anatomopatologice sînt calitativ asemănătoare: o intricare de elemente inflamatorii cu elemente degenerative. Predominanţa leziunilor inflamatorii acute constituie leziunea majoră din encefalopatia hemoragică acută şi în parte din encefalomielita acută diseminată. În prima, leziunile care macroscopic au aspecte hemoragice şi necrotice, microscopic constau din infiltrate mixte polinucleare şi mononucleare, asemănătoare leziunilor de tip Arthus (fig. 28 a); concomitent există tromboze în lumen, leziuni endoteliale şi extravazări de hematii. În formele mai prelungite apar şi infiltraţii de plasmocite între mononucleare (fig. 28 b). De asemenea pot să apară mici focare de demielinizare. Se pare că există o relaţie între acestea şi infiltraţiile limfocitare ca semn al unei hipersensibilizări de tip tardiv (Waksman, 1965).

În encefalomielita acută diseminată, leziunile păstrează acelaşi caracter acut cu distribuţie perivasculară, însă cu predominanţa limfocitohistiocitară şi cu prezenţa de plasmocite. Apare de asemenea o reacţie hiperplazică a microgliei în jurul focarelor infiltrative. Adiacent apar evidente focare de degenerescenţă mielinică. Waksman (1965) a arătat, prin marcare cu timidină tritiată, că limfocitele infiltrative sînt din circulaţie, dar că pot să prolifereze pe loc, transformîndu-se în histiocite şi plasmocite formatoare de Ac (fig. 28). Leziunile de demielinizare par să fie consecinţa proliferării pe loc a limfocitelor şi histiocitelor (Waksman şi Adams, 1962).

În scleroza în plăci, leziunile sînt diseminate în întreg sistemul nervos central şi periferic. În leziunile mai recente se găsesc focare degenerative demielinizante în substanţa albă cu fagocitarea materialului gras şi infiltraţie perivasculară, cu limfocite. În leziunile complet formate sînt bine individualizate plăcile de scleroză prin demielinizare „scleroză în insule", cum au fost denumite de Chevallier. Există în plăci, focare inflamatorii în jurul vaselor asemănătoare celor din encefalomielita diseminată. Se remarcă dispariţia oligodendrogliilor din plăcile în plină degenerescenţă. Dispariţia ar fi un efect citotoxic de origine virală sau alergică.

Lichidul cefalorahidian prezintă modificări considerate importante pentru diagnostic. În encefalopatia hemoragică, modificările l.c.r. sînt asemănătoare celor din meningita cerebrospinală clasică, numai că lichidul este steril. În encefalomielita acută diseminată (E.M.A.D.), reacţia celulară este mai puţin constantă şi mai redusă cu predominanţa de Lc, alături de histiomonocite. În scleroza în plăci există particularităţi deosebite pentru diagnostic şi prognostic. Reacţia celulară este moderată sau mică,

Scanned with OKEN Scanner

existînd pînă la 100 celule/mm^3; mai rar se găsesc plasmocite. Reacția celulară apare într-o treime din cazuri, pe cînd proteinorahia se găsește în 80% din cazuri. Ea constă din creșteri de gammaglobuline care de cele mai multe ori nu sînt însoțite de creșteri și în sînge. După Sherwin și colab. (1963), gammaglobulinele din l.c.r. se formează în sistemul nervos central de către plasmocitele din focarele inflamatorii. Ele nu trec în sînge căci nu pot depăși bariera hematoencefalică. Apar astfel numai în l.c.r., însă nu s-a determinat dacă sînt Ac specifici față de sistemul nervos.

C. REACȚII SEROLOGICE SPECIFICE

Cercetarea reacțiilor imune de hipersensibilizare a pus în evidență prezența de Ac circulanți fixatori de C′ sau cu acțiune citotoxică *in vitro*. De asemenea, s-a dovedit o hipersensibilitate întîrziată cutanată față de extracte de țesut nervos eterolog. Anticorpii F.C. s-au găsit în special în scleroza în plăci, folosind ca Ag extractul apos de creier; după date mai vechi (Raskin, 1955), ei apar într-un procent mare de cazuri. După date mai recente, Ac F.C. (Lumsden, 1965) apar la 41% în cazurile de sclerozã în plăci, pe cînd la normali și la alte boli nervoase în 3%. După alți autori, frecvența lor este mai redusă, apropiindu-se de cea de la grupul martor (Mackay și Burnet, 1963).

În E.M.A.D., după vaccinarea rabică, Ac F.C. sînt crescuți cam la jumătate din cazuri; Mackay și Burnet, ca și alți autori, arată că frecvența Ac este mai mică decît incidența cazurilor după vaccinare.

Ac citotoxici au fost găsiți în special în boala experimentală, efectul lor toxic dovedindu-se asupra culturilor de explante cerebrale *in vitro*; de asemenea, au fost găsiți la om într-un procent mare de cazuri în scleroza în plăci. În celelalte forme nu sînt rezultate concludente asupra lor.

Reacțiile cutanate de tip tardiv cu extracte apoase de țesut cerebral sînt pozitive în boala experimentală și li se atribuie o semnificație în patogenia bolii. La om sînt puține cercetări, întrucît injecția intradermică de Ag de creier ar putea induce o boală sau ar agrava una existentă (Paterson, 1965). Unele teste făcute cu omogenat de creier în scleroza în plăci au dat rezultate negative (Böhme, 1963).

Mecanismele imune celulare cu eventual efect direct de leziune în sistemul nervos central (Paterson, 1968) s-au dovedit recent prin testele noi de imunitate tardivă *in vitro*.

Pentru sensibilizarea celulară s-a practicat testul de transformare blastică cu limfocite de boală demielinizantă și cu material centrifugat de l.c.r. unde se presupune că ar exista Ag cerebrale (Hughes și colab., 1968). Rezultatele au fost pozitive folosindu-se concentrate de l.c.r. autolog sau de la alți bolnavi cu sclerozã multiplă și encefalită postvaccinală (Jensen, 1968). Natura encefalitogenă a concentratelor din l.c.r. se dovedește în plus prin reproducerea de encefalită alergică experimentală după injecția la animale (Fowler și colab., 1966).

Testul Bloom de inhibiție a migrării macrofagelor, folosind ca Ag proteina encefalitogenă solubilă, a fost încă puțin cercetat, dar poate să constituie o metodă nouă de perspectivă.

Scanned with OKEN Scanner

D. ETIOPATOGENIE

E.M.A.D. umană postvaccinală antirabică sau antivariolică este un model potrivit de experiment pe om prin care se dovedeşte unul din mecanismele de producere al bolilor demielinizante. Cercetările din 1955—1965 au urmărit să dovedească caracterul autoimun al bolilor demielinizante şi modul de producere al leziunilor pe mai multe căi.

Dintre modelele experimentale cele mai reuşite menţionăm reproducerea E.M.A.D., care are aceleaşi leziuni ca cea umană şi aceleaşi caractere imunoserologice. Ac apar ca auto-, izo- şi etero-Ac specifici, pentru substanţa cerebrală (Harwin şi Paterson, 1961). Leziunile păstrează caracterul de inflamaţie imunoreactivă din boala umană. După specie şi tipul de imunizare există şi focare de demielinizare cu reacţie glială moderată, însă care nu ajung niciodată să reproducă leziunile din scleroza multiplă. Pînă acum nu s-a reuşit să se reproducă la animal o afecţiune demielinizantă cronică asemănătoare cu scleroza în plăci umană (Paterson, 1965; Bornstein, 1966). În unele condiţii, la maimuţă, cîine şi pisică s-au obţinut forme de boală prelungită, în care se găsesc leziuni degenerative, diferite însă de cele din scleroza în plăci umană.

Reproducerea experimentală a E.M.A.D., cea mai demonstrativă pentru mecanismul autoimun, după imunizare cu ţesut nervos, a făcut-o Waksman (1962, 1965). Lucrînd pe mai multe zeci de animale, autorul reproduce boala după injecţia de ţesut nervos izo- şi eterolog în adjuvant Freund, în laba posterioară a animalelor. Leziunile apar după 6—8 zile, iar semnele de paralizie după alte 1—3 zile. Urmărind limfocitele marcate cu timidină tritiată se stabileşte dinamica reacţiilor imune locale şi generale şi relaţiile cu leziunile din sistemul nervos central. După 5—7 zile de la injecţia în labă se produce reacţia hiperplazică în ganglionii poplitei regionali; 80% din limfocitele mici îşi măresc volumul şi sînt marcate cu timidină. Se produce transformarea bazofilă cu apariţia de „imunoblaste", care, prin diviziune, vor deveni noi limfocite mici, sensibilizate specific. Acestea trec în circulaţie şi depăşind bariera hematoencefalică pătrund în spaţiile Virchov-Robin, dispersîndu-se perivascular. Aici se produce din nou o proliferare imună cu apariţia de plasmocite, secreţie de Ac şi leziuni specifice cu focarele de demielinizare. S-a arătat că iradierea ganglionilor regionali scade incidenţa producerii bolii; acelaşi efect îl are ridicarea ganglionilor după injecţie (Paterson, 1963). Problema care se ridică încă este explicarea mecanismului leziunilor după invazia celulelor sensibilizante în creier.

Avînd în vedere incidenţa mare a Ac fixatori de C′ s-a considerat că leziunile sînt produse prin acţiunea lor citotoxică. Lucrările lui Bornstein au pus în evidenţă efectul citotoxic al serului asupra culturilor de explante de ţesut nervos şi în special asupra celulelor nevrogliale.

Încercările de a reproduce boala cu ser care conţine Ac fixatori de C′ şi citotoxici nu au dat rezultate. Boala însă a putut fi reprodusă prin transfer de Lc sensibilizate, izolate din ganglionii animalelor care erau în plină activitate imună, după injecţia cu ţesut nervos în adjuvant Freund (Koprowski, 1962). Paterson (1965) a reuşit să dovedească rolul Lc şi Ac în producerea bolii. Concluziile sale sînt că Ac din circulaţie, transferaţi la

Scanned with OKEN Scanner

normali pe cale sistemică, nu reproduc boala întrucît nu depășesc bariera hematoencefalică; dacă se transferă limfocitele sensibilizate se constată că leziunile și boala clinică nu apar decît după o perioadă de incubație, în care timp se produc Ac locali în S.N.C. Prin extrapolare, la boala umană, se pot explica gammaglobuline crescute numai în l.c.r. din scleroza în plăci.

S-a dovedit că după transfer de Lc apar leziuni și se reproduce boala numai dacă Lc proveneau de la animalele al căror ser posedă efect citotoxic asupra culturilor de țesut nervos (Paterson, 1963). S-a dovedit apoi că Ac fixatori de C′ sînt diferiți de cei citotoxici. În culturi, serurile de Ac fixatori de C′ nu au nici o acțiune toxică, pe cînd cele cu titru citotoxic mare sînt active chiar cînd nu conțin Ac fixatori de C′. Alte experiențe ale lui Bornstein, în culturi de explante nervoase, au dovedit acțiunea Ac citotoxici asupra celulelor gliale și asupra speciilor de mielină. Este remarcabil efectul demielinizant al serurilor recoltate după imunizarea animalelor cu Ag în adjuvant Freund, printr-un efect de umflare a celulelor gliale și de demielinizare a fibrelor, cu alterarea axonilor.

Pe baza unor cercetări anterioare, care demonstrează păstrarea funcțiilor de conductibilitate nervoasă a substanței albe *in vitro*, s-a dovedit alterarea acestei conductibilități sub acțiunea serurilor citotoxice (Bornstein și Crain, 1965). Expunerea de scurtă durată și apoi spălarea culturilor în mediu salin tamponat înlătură efectul inhibitor asupra conductibilității nervoase, care aproape revine la normal.

Bornstein și colaboratorii au obținut același efect demielinizant *in vitro*, folosind seruri de la animalele imunizate și de la bolnavi cu scleroză în plăci. În tabelul nr. 32 se constată efectul demielinizant în culturi

Tabelul nr. 32

Efectul demielinizant al serurilor de bolnavi asupra culturilor de țesut nervos (după Bornstein și Crain, 1965)

Diagnostic clinic	Pozitiv	Negativ
Demielinizante:		
Scleroză multiplă — activă	35	12
Scleroză multiplă — activă (?)	12	18
Scleroză multiplă — inactivă	1	37
Neuromielită optică	1	0
Neurită optică	1	3
Scleroză laterală amiotrofică	9	6
Encefalomielită postvaccinală	1	2
Nedemielinizante:		
Normal	2	30
Boli ale S.N.C. — acute și cronice	1	26
Neoplasm al S.N.C.	2	0
Etiologie necunoscută	0	35

produs de serul de la bolnavi cu scleroză în plăci. În formele active rezultatele pozitive sînt predominante. Bornstein dovedește că leziunile se produc printr-o reacție Ag — Ac, cu fixarea C′ în complexe imune, ca în orice reacție imună reactivă capabilă să producă leziuni tisulare.

Transpunerea mecanismelor patogenice din boala experimentală în boala umană are însă unele aspecte negative, determinate în special de

Scanned with OKEN Scanner

etiologia necunoscută în multe din afecţiunile demielinizante. Există o mare asemănare de mecanisme între E.M.A.D. postvaccinală rabică la om şi cea experimentală. Ambele au ca factori etiologici injectarea de ţesut nervos eterolog şi ambele evoluează cu leziuni apropiate. În celelalte afecţiuni demielinizante, şi în special în scleroza în plăci la om, nu se cunoaşte în majoritatea cazurilor mecanismul etiologic care declanşează boala. Există forme de E.M.H. şi E.M.A.D. şi chiar de scleroză în plăci care apar după anumite infecţii virotice şi după vaccinarea antirabică. Este posibil ca şi în alte cazuri etiologia să fie virotică, identificîndu-se virusul cu caracter de virus vaccinal sau de rujeolă. În scleroza în plăci, izolarea unui virus neurotrop asemănător celui rabic de către cercetătorii sovietici (Margulis, Soloviev şi Shubladze, 1964) nu s-a confirmat (Dick şi colab., 1958).

Ipoteza unor infecţii bacteriene şi a unor spirochete — găsite în l.c.r. din scleroza în plăci — s-a infirmat complet prin cercetările actuale (Ichelson, 1957). Persistenţa unor virusuri pentru mulţi ani în S.N.C. a fost incriminată ca factor etiologic în instalarea leziunilor de scleroză în plăci. Astfel s-a izolat, după mulţi ani, virusul herpetic şi virusul coriomeningitei limfocitare (Good şi Campbell, 1948; Hotchin, 1962).

Patogenia neuropatiilor demielinizante s-a îmbogăţit în ultimii ani prin unele cercetări făcute cu metode noi de investigaţii la om şi cu unele verificări experimentale. O contribuţie deosebită din punct de vedere al etiologiei virotice, dar şi din punct de vedere imunopatologic general, a fost adusă de reconsiderarea panencefalitei cronice sclerozante postrujeolă (Connolly şi colab., 1967; Bouteille şi colab., 1965; Burnet, 1968).

Caracterul de patologie imună s-a precizat în plus prin purificarea Ag extrase din substanţa cerebrală care au acţiune encefalitogenă. Se ştie acum că fracţiunea encefalitogenă care reproduce boala demielinizantă experimentală după administrare în adjuvante variate (Levine, 1970, 1972) reproduce encefalita alergică experimentală ca şi extractul total crud de creier din experienţele iniţiale ale lui Witebsky şi Waksman.

Purificată, proteina encefalitogenă este o proteină bazică catodică ce intră în structura fibrelor mielinice (Einstein, 1969; Kies şi Alvord, 1969), are greutate moleculară mică, variind, după metoda de extracţie, între 12 500 şi 37 000. După Nakao şi colab. (1966), din 5 fracţiuni purificate numai fracţiunile C şi F sînt encefalitogene. Din structurile mielinice s-au extras şi alte proteine anodice (Moore şi McGregor, 1965), precum şi unele fracţiuni lipidice (cerebrozide, sfingomieline) care nu sînt encefalitogene (Niedrieck şi colab., 1965), deşi produc Ac specifici faţă de substanţa cerebrală. Se consideră că în imunizarea prin substanţă cerebrală etero- sau autologă apar Ac cu efect citotoxic pentru celule nervoase şi fibrele mielinice şi Ac fixatori de C′ care se fixează pe ţesuturile nervoase, dar nu produc leziuni. Ac citotoxici sînt produşi de proteina encefalitogenă, pe cînd cei fixatori de C′ sînt produşi de alte Ag. Aceştia din urmă par să constituie factorii de protecţie cînd se găsesc cu un titru înalt, inhibînd printr-un mecanism de feedback producerea Ac citotoxici; de asemenea ei pot să blocheze receptorii sensibili ai Ag structurale din sistemul nervos central, aşa cum credea mai de mult Paterson (1963).

Scanned with OKEN Scanner

Fenomenul de protecţie faţă de acţiunea encefalitogenă a proteinei bazice este încă discutat avînd în vedere incidenţa redusă a sclerozei în plăci la cei cu traumatisme craniene, la care se eliberează în sistemul nervos central şi în circulaţie Ag cerebrale cu proteină encefalitogenă. Pe o statistică de peste 3 500 traumatizaţi de război, din care 40% au făcut crize de epilepsie, nici unul nu a făcut scleroză în plăci (Hillbom, 1960). Mecanismele de protecţie pot să fie determinate de competiţia imună a celor două tipuri de Ag encefalitogene şi nonencefalitogene; s-au pus în evidenţă apoi anumiţi factori serici cu acţiune mai complexă (Gerstl şi colab., 1972) care ar produce un efect de clivaj al proteinei encefalitogene (Lamoureux şi colab., 1966). Se admite de asemenea formarea unor complexe în care ar interveni Ig de tip IgA sau altele, inactivînd proteina encefalitogenă.

Metode noi pentru punerea în evidenţă de Ac au arătat frecvenţa acestora în lichidul cefalorahidian şi în creier. În panencefalita sclerozantă postrujeolică s-a izolat un component M monoclonal din sistemul gamma care apare în cazurile cu titruri crescute de Ac, antivirus de rujeolă (Karcher şi colab., 1970, 1972). Ac circulanţi fixatori de C′ se consideră că se depun în sistemul nervos central în zonele perivasculare şi chiar în zonele de demielinizare, precum şi în celulele mononucleare din leziuni (Turtellote, 1967). Efectul lor toxic direct sau prin complexe imune cu fracţiunile antigenice locale, cum susţin Oldstone şi Dixon (1968), nu este însă dovedit. De aceea nu li se poate încă atribui o semnificaţie patogenică, ci numai de diagnostic prin fracţiunile de IgG din lichidul cefalorahidian în scleroza în plăci. Pare însă sigur dovedit că fracţiunile IgG sînt sintetizate intracerebral în zonele de infiltraţie cu Lc şi plasmocite şi numai o mică parte (13—32%) ar proveni din gammaglobulinele circulante (Cutler şi colab., 1967).

Ac precipitanţi evidenţiaţi prin metode de imunodifuziune (Lisak, 1968) nu au adus argumente în plus patogenice pentru proteina encefalitogenă.

Studiul panencefalitei sclerozante cronice sau subacute a adus o contribuţie deosebită în problemele actuale de patologie imună. În forma postrujeolică apare un tip de boală imună în care intervin mai multe mecanisme condiţionate, în primul rînd de deficitul imun de tip celular; apare mai ales la băieţi, la 4—17 ani după infecţia rujeolică, şi evoluează lent cu degradare neuropsihică treptată pînă la paralizie spastică şi comă terminală.

Există cîteva modificări histopatologice şi imunologice care atestă patogenia imună prin infecţia cu virus rujeolic (Adams, 1967). Leziunile sînt mai ales în celulele gliale hiperplaziate, cu incluziuni în nucleu şi infiltraţii plasmocitare. Bolnavii care fac boala cronică prezintă Ac fixatori de C′ în titru mare în circulaţie, iar în leziuni se găsesc Ac pe ţesuturi. După Burnet (1968), panencefalita sclerozantă este un model de boală în care există un deficit imun al Lc T privind apărarea antivirotică. Persistă funcţia de imunitate imediată cu producere de Ac antivirali, însă imunitatea antivirală celulară este defectuoasă. Prin aceasta persistă Ag virale care au pătruns în sistemul nervos central prin Lc infectate, astfel că după ani de zile se produc leziunile de panencefalită.

Scanned with OKEN Scanner

S-a identificat natura antigenică virotică a incluziunilor nucleare gliale (Connelly şi colab., 1967) şi s-a cultivat virusul din leziuni (Adels şi colab., 1968; Cerf şi colab., 1966); s-a demonstrat de asemenea titrul crescut de Ac fixatori de C′ în L.C.R. şi în ser.

O altă contribuţie recentă în patogenia imună a neuropatiilor o constituie descoperirea unor fracţiuni antigenice în tumorile umane care dau reacţii imune cross-reactante cu Ag din sistemul nervos central (Westall şi colab., 1971; Caspary şi colab., 1971). Se explică pe această cale manifestările neuropatice de boală paraneoplazică care apar în diverse cancere şi se dovedeşte în plus natura imunologică a diverselor leziuni din sistemul nervos central.

Cu toate că există aspecte necunoscute, se admite unitatea bolilor demielinizante printr-un mecanism de sensibilizare şi autoimunizare. Reacţiile încep şi se continuă prin Ag de ţesut nervos eterolog, ca în encefalomielita postvaccinală rabică, sau prin ţesut propriu care a suferit o primă leziune şi modificare antigenică printr-o infecţie virală oarecare.

Mecanismele imunologice din ce în ce mai bine dovedite constituie în prezent o problemă cheie pentru noi căi de terapie şi profilaxie în bolile demielinizante umane.

În aplicările practice terapeutice s-a dovedit efectul bun al cortizonului, aplicat pe durată prelungită în scleroza în plăci. Încercările de a aplica o terapie imunosupresivă prin citostatice şi derivaţi purinici sînt încurajatoare (Hoyer şi colab., 1962). Bornstein (1965) relatează că la 100 de bolnavi trataţi cu unul sau mai mulţi agenţi imunosupresivi (endoxan, 6—MP), timp de 18 luni, s-au obţinut remisiuni în 50% din cazuri. La 6 din 7 bolnavi serurile şi-au pierdut citotoxicitatea pe culturi *in vitro*. Din punct de vedere profilactic se discută acum eventuala scoatere din practică a vaccinării antivariolice în ţările în care a fost eradicată, ca în S.U.A., tocmai pentru a preveni neuropatiile demielinizante postvaccinale (Lane şi colab., 1969).

BIBLIOGRAFIE

Adams I. M., Neurology (Minneap.), 1967, *17*, 707.

Adels B. R., Gaydusek D. C., Gibbs C. J. Jr., Albrecht P., Rogers N. G., Neurology (Minneap.), 1968, *18*, 30.

Bornstein M. B., în: *Immunopathology* (4th Int. Symp.), sub red. P. Grabar, Miescher P. A., Basel-Schwabe, 1966, p. 374.

Bornstein M. B., Appel S. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *122*, 280.

Bornstein M. B., Crain S. H., Science, 1965, *148*, 1 242.

Bouteille M., Fontaine C., Vedrenne C., Delarue J., Rev. Neurol. (Paris), 1965, *113*, 454.

Böhme D., Paal G., Kersten W., Kersten H, Nature (London), 1963, *197*, 609.

Burnet F. M., Lancet, 1968, *2*, 60.

Caspary E. A., Field E. J., Brit. Med. J., 1971, *2*, 613.

Cerf J. A., Carels G., Science, 1966, *152*, 1 066.

Connolly J. H., Allen I. V., Hurwitz L. J., Millar J. H. D., Lancet, 1967, *1*, 542.

Cutler R. W. P., Watters G. V. Hammerstad J. P., Merler E., Arch. Neurol. (Chicago), 1967, *17*, 620.

Dick G. W.A., McKeown F., Wilson D.C ., Brit. Med. J., 1958, *1*, 7.

Einstein E. R., Cseytey J., Davis W. J., Laytha A., Marks N., în *Pathogenesis and Etiology of Demyelinating Diseases*. sub red. Burdzy K., Kalles P., New York, Karger, 1969, p. 363.

Fowler I., Morris C. E., Whitley T., New Engl. J. Med., 1966, *275*, 1 041.

Scanned with OKEN Scanner

GERSTL B., UYEDA C. T., HUNT H., ENG L. F., Immunology, 1972, *23*, 395.
GOOD R. S., CAMPBELL B., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1948, *68*, 82.
HILLBOM E., Acta Psychiat. Scand., 1960, suppl. *142*, 35.
HOTCHIN J., Cold. Spring Harbor Sympos., 1962, *27*, 479.
HOYER L. W., GOOD R. A., CONDIE R. M., J. Exp. Med., 1962, *116*, 311 (6-Mercaptopurine).
HUGHES D., CASPARY E. A., FIELD E. J., Lancet, 1968, 1 205.
ICHELSON R. R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1957, *95*, 57.
JENSEN M. K., Acta Neurol. Scand., 1968, *44*, 200.
KARCHER D., THIRY L., ZEMAU W., LOWENTHAL A., în *Protein Metabolism of the Nervous System*, sub red. LAYTHA A., Plenum Press, New York, Londra, 1970, p. 598.
KARCHER D., MATTHYSSENNS, LOWENTHAL A., Immunology, 1972, **23**, *1*, 93.
KIES M. W. ALVORD E. C. JR., în *Pathogenesis and Etiology of Demyelinating Diseases*, sub red. BURDZY K., KALLES P., New York, Karger, 1969.
KOPROWSKI H., FERNANDEZ M. Y., J. Exp. Med., 1962, *116*, 467
LAMOUREAUX G., BORDUAS A. G., Clin. Exp. Immunol., 1966, *1*, 363.
LANE J. M., RUBEN F. L., NEFF J. M., MILLAR J. D., New Engl. J. Med., 1969, *281*, 1 201.
LEVINE S., HOENIG E. M., KIES M. W., Clin. Exp. Immunol., 1970, *6*, 503.
LEVINE S., SOWINSKI R., GRUENEWALD R., KIES M. W., Immunology, 1972, **23**, 609.
LISAK R. P., HEINZE R. G., FAUR G. A., KIES M. W., Neurology (Minneap.), 1968, *18*, 122.
LUMSDEN C. E., HUGHES D., în *Multiple sclerosis, A reappraisal*, ed. a 2-a, Livingstone Ltd., Edinburgh-Londra, 1965, p. 345 — 380.
MACKAY I. R., BURNET M. F., în *Autoimmune Diseases*. Charles Ch. Thomas Publ. Springfield-Illinois, S.U.A., 1963, p. 172.
MARGULIS M. S., SOLOVIEV V. D., SHUBLADZE A. K., J. Neurol. Neurosurg. Psychat., 1964, *9*, 63.
MOORE B. W., MC GREGOOR D., J. Biol. Chem., 1965, *240*, 1 647.
NAKAO A., DAVIS W. J., EINSTEIN E. R., Biochem. Biophys. Acta, 1966, *130*, 163.
OLDSTONE M. B. A., DIXON F. J., Ann. J. Path., 1968, *52*, 251.
PATERSON P. Y., în *Textbook of Immunopathology*, sub red. MIESCHER P. A., MÜLLER-EBERHARD H. J., Grune and Stratton, New York, 1968, p. 132.
PATERSON P. Y., HARWIN S. M., J. Exp. Med., 1963, *117*, 755.
PATERSON P. Y., JACOBS A. F., COIA E. M., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 292.
RASKIN N., Arch. Neurol. Psychiat., 1955, *73*, 645.
SHERWIN A. L., O'BRIEN C. J., RICHTER M., COSCROVE I. B R., RESE B., Neurology (Minneap.), 1963, *13*, 703.
TOURTELLOTTE W. W., PARKER J. A., Nature (London), 1967, *214*, 683.
WAKSMAN B. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, P. I., 299.
WAKSMAN B. H., ADAMS R. D., Amer. J. Path., 1962, *41*, 135.
WESTALL F. C., ROBINSON A. B., CACCAM J., JACKSON J., EYLAR E. H., Nature, 1971, *229*, 24.

Scanned with OKEN Scanner

17. HEMOCITOPENIILE AUTOIMUNE

ŞT. BERCEANU

A. ANEMIA HEMOLITICĂ AUTOIMUNĂ DOBÎNDITĂ (A.H.A.I.)

Istoric şi clasificare. După delimitarea clinică, morfologică şi biochimică a icterului hemolitic Michowski-Chauffard, definit mai tîrziu ca anemie hemolitică cu sferocitoză (defect intraeritrocitar), în literatura franceză sînt semnalate pentru prima dată cazuri de anemie hemolitică cu caracter autoimun de către Vidal şi colab. (1908) ca forme de boală hemolitică dobîndită prin autohemolizine.

În 1940, Dameşhek şi Schwartz conturează mecanismul patogenic de boală autoimună care capătă un loc important în patologie prin noua metodă de investigaţie introdusă de către Coombs şi colab. (1945). Cu mult înainte însă, Donath şi Landsteiner (1904) au descris anemia hemolitică paroxistică à frigore prin hemolizine bifazice circulante. Epoca deschisă de metoda lui Coomb face să crească an de an numărul de observaţii prin care se disting formele de hemoliză autoimună dobîndită (H.A.I.) prin Ac compleţi, aglutinine şi hemolizine şi formele prin Ac incompleţi care se pun în evidenţă prin variante perfecţionate ale testului antiglobulinic Coombs.

După 1960, în mod special, cercetările asupra participării C′ în hemoliză şi în producerea leziunii de membrană eritrocitară (Müller-Eberhard, 1963; Rosse şi colab., 1966) conduc la caracterizarea formelor actuale de A.H.A.I. După 1965, prin cercetările lui Weiner şi Vos se urmăreşte a se caracteriza auto-Ac compleţi sau incompleţi din punct de vedere al specificităţii lor în cadrul grupelor şi subgrupelor sanguine, precum şi din punctul de vedere al structurilor, ca Ig din sistemul gamma. După metodologia de diagnostic, A.H.A.I. se poate împărţi acum (Dacie, 1965; Van Loghem, 1965; Worlledge, 1965; Pirofsky, 1969; Leddy şi colab., 1971) în grupe de A.H.A.I. cu Ac la cald şi A.H.A.I. cu Ac la rece. Ac detectaţi pot să fie *compleţi*, în sensul că produc aglutinarea sau hemoliza hematiilor pe care se fixează cu sau fără participarea C′. Ac pot să fie *incompleţi* cînd se fixează pe hematie, producînd unele schimbări de membrană, dar nu produc prin ei înşişi *in vitro* sau *in vivo* nici aglutinare, nici hemoliză. Aceştia sînt puşi în evidenţă prin testul Coombs (tabelul nr. 33).

A.H.A.I. prin Ac la cald. O caracteristică clinică specială este greu de conturat în cadrul general al A.H.A.I. dobîndite primare. În statistica lui Worlledge caracterul primar, cel puţin pentru perioada studiată, este predominant, procentajul cazurilor de boală primară fiind de 80%; tot predominant apare şi în statistica noastră (tabelul nr. 34).

Clinic, o formă primară se deosebeşte greu de sferocitoza Michowski-Chauffard, în momentul examinării. Ca şi în prima, evoluţia este cronică, permanentă, cu perioade de predominanţă a icterului, cînd hemoliza este compensată, şi cu perioade de predominanţă a anemiei, cînd capacitatea de regenerare medulară este depăşită de intensitatea hemolizei.

Tabelul nr. 33

Clasificarea a 198 de cazuri A.H.A.I.

(după Worliedge, 1965)

	Numărul de cazuri		Total
A.H.A.I. la cald	143	primară	87
		secundară	56
Sindromul de hemaglutinare la frig	44	primar	23
		secundar	21
Hemoglobinurie paroxistică la frig	11	primară	3
		secundară	5
		neclasificată	3
	198		198

Tabelul nr. 34

Statistica frecvenţei de A.H.A.I. în Institutul de medicină internă

(după Gheorghiu şi colab., 1973)

Diagnostic	Nr. de cazuri	Testul Coombs direct	Testul de aglutinare cu eritrocite papainate
Leucemie limfatică cronică	40	7	9
Macroglobulinemie Waldenström	5	3	3
Boală Hodgkin	46	3	13
Mielom	15	0	9
Limforeticulosarcom	24	1	7
Lupus eritematos diseminat	56	6	26
Alte boli de colagen (sclerodermie, dermatomiozită, poliarterită)	10	2	4
Artrită reumatoidă	39	0	9
Hepatită cronică, ciroză	17	2	9
Purpură trombocitopenică	21	0	3
Anemie hemolitică autoimună idiopatică	6	6	6
TOTAL	279	30 (9,3%)	98 (29%)

Debutul poate să fie brutal cu criză de hemoliză acută. Pot apărea hemoglobinemie şi hemoglobinurie cînd anemia este gravă, cu scăderi de hemoglobină pînă la 4—5 g%. Există însă cazuri cu debut şi evoluţie insidioasă, chiar ani de zile, după care apar crize acute de hemoliză, ca în icterul microsferocitar. Acestea sînt determinate de stări fiziologice ca sarcina, menstruaţia, eforturi fizice, precum şi prin factori patologici

Scanned with OKEN Scanner

ca infecţiile acute, stressuri emoţionale sau fizice. În alte cazuri, evoluţia este de la început cronică cu semne de icter moderat şi hemoliză constantă : bilirubinemie indirectă crescută, urobilinurie accentuată, stercobilină peste 350 mg în 24 h; rezistenţa globulară osmotică este în general scăzută, iar reticulocitele sînt constant crescute ca semn de hemoliză permanentă. În perioadele de hemoliză acută pot să crească pînă la 50—70%. În perioadele rare de remisiuni spontane, dar mai ales după splenectomie, reticulocitele scad la normal, chiar dacă persistă autoanticorpi în ser. Semnul major al hemolizei este scăderea duratei de viaţă a hematiilor. În orice formă cu hemoliză prezentă, durata de viaţă este scăzută, arătînd în proba cu hematii normale marcate cu Cr^{51} injectate la bolnavi o durată de înjumătăţire sub 20 de zile, normalul fiind de 27—35 de zile. Testul de autohemoliză arată o creştere de peste 5% şi nu se influenţează de adaosul de glucoză. În scăderile duratei de înjumătăţire (T 1/2) în jur de 5 zile, adică o scădere de 5 ori sub limita inferioară a normalului, viteza de eritropoeză medulară atinge limita maximă posibilă considerată ca de 5—6 ori mai mare ca viteza de eritropoeză obişnuită. Peste această limită, hemoliza periferică nu mai poate fi compensată şi apare anemia cu atît mai gravă cu cît durata de viaţă este mai scurtă, putînd ajunge la cifre extreme de T 1/2 sub 2 zile.

Formele secundare de A.H.A.I. sînt în general dominate ca simptomatologie de boala de bază : L.l.cr. şi L.S. unde apar la 10—20% din cazuri (Dameshek, 1964), cancere variate, şi mai ales boli autoimune ca L.E.D., sindrom Sjögren, dermatomiozită, P.C.E., tiroidita autoimună; mai rar în alte boli cu implicaţii imune ca hepatita cronică agresivă şi ciroză, glomerulonefrita cronică, scleroză multiplă, infecţii cronice diverse.

Există cazuri cu boli autoimune sau cu autoîntreţinere prin complexe imune cu crioglobulinemii, care se pot însoţi de A.H.A.I. însă mai rar cu Ac la cald, obişnuit fiind cu Ac la rece. O condiţie frecvent semnalată este asocierea A.H.A.I. cu forme variate de deficit imun în special în agammaglobulinemii tipul Bruton sau elveţian, dar şi în anumite tipuri de disgammaglobulinemii. Se citează cazuri de sindroame prin deficit imun dobîndit (Pirofsky, 1968) la care apar o constelaţie de dereglări imune cu tiroidită autoimună, L.E.D., anemie Biermer, A.H.A.I. Aceste asocieri pot evolua sau precede o hiperplazie tumorală de ţesut limfoid ca L.S., R.S. sau tumoare timică. Din 134 cazuri de A.H.A.I., 113 sînt asociate cu aceste neoplazii. De remarcat că A.H.A.I. poate apărea chiar cu 2 ani înaintea limfoproliferării, în medie cu 34 de luni. Pirofsky insistă asupra prognosticului grav al acestor neoplazii a căror evoluţie nu depăşeşte 12,3 luni.

Între formele secundare de remarcat şi cazurile după alfametil-dopa.

Imunologia Ac la cald. Cercetările de după 1965, în special ale autorilor anglo-saxoni (Dacie, 1965, 1968; Witebsky, 1965; Van Loghem, 1965; Worlledge, 1965; Schubothe, 1969) sintetizate în cîteva tratate actuale (Dacie şi Worlledge, 1969; Pirofsky, 1969; Leddy, 1971) arată că Ac la cald sînt în genere incompleţi şi fixaţi pe hematii şi se pun în evidenţă prin testul Coombs direct după incubaţie la 37°C cu ser imun anti-gammaglobulină umană.

Ac liberi apar la 38% din cazuri prin testul Coombs indirect (Dacie şi Worlledge, 1969), mai ales dacă se sensibilizează hematiile cu enzime

proteolitice ca papaina sau pepsina sau se lucrează în mediu albuminos. În hemolizele severe pot avea un titru mare şi pot să producă o aglutinare directă sau chiar hemoliză prin legarea C′ la 37°C. În general, Ac liberi sînt de acelaşi tip ca cei blocaţi, care se pot elua după hematii.

Analizele imunochimice după eluţia Ac la cald arată că în marea majoritate sînt gammaglobuline de tip IgG şi foarte rar IgM sau IgA. Analizaţi după rezultatul testului Coombs cu ser antigamma, se disting 3 situaţii : a) Ac blocanţi tip IgG (50% din cazuri); 2) Ac blocanţi tip IgG + C′, care pot sau nu să dea un test Coombs direct pozitiv cu ser anti-gamma; 3) Ac de tip non-gamma prin fixarea numai a fracţiunilor de C′ ($beta_1E$ sau $beta_1C$): aceştia dau test Coombs direct negativ cu ser anti-gamma, dar dau test Coombs pozitiv cu ser anti-nongamma şi mai ales cu ser specific anti-C′ (anti-$beta_1E$ şi $beta_1C'$). Eluţiile după hematie din grupele 2 şi 3 arată prezenţa de C′ fixat odată cu Ac IgG (grupa 2) sau fixat fără aceştia (grupa 3). Se admite în această ultimă grupă posibilitatea de fixare a C′ fără Ac prin alte căi de activare (Götze şi Müller-Eberhardt, 1971); se poate însă să existe şi o fixare de IgG care s-a desprins după hematie, după cum poate să existe fixări mai rare de Ac IgM sau chiar IgA ce s-au pus în evidenţă prin eluarea lor după hematie. Aceste situaţii se pot întîlni în boli cu dereglări imune mai complexe în care se asociază şi trombocitopenia ca în unele limfoame maligne sau după sensibilizări la unele droguri ca alfa-metil-dopa.

Cazuri de fixare de C′ singur s-au întîlnit în limfoame maligne şi L.E.D. unde IgG are o afinitate mai redusă şi se găseşte sub pragul de decelare prin testul Coombs şi unde în general nu se produc hemolize.

Specificitatea auto-Ac la cald este admisă pentru majoritatea cazurilor. Ac identificaţi ca IgG sînt Ac anti-Rh faţă de un anumit subgrup. În statistica lui Worlledge, din 114 cazuri, 43 (38%) sînt anti-Rh, pe cînd după Weiner şi Vos (1963) procentajul este de 70% dacă se consideră şi formele de Rh cu „deleţie de genă". Reconsiderîndu-se cazurile negative pentru specificitate, se admite că specificitatea Ac eluaţi sau liberi de tip IgG se dovedeşte pentru Ag determinante puternice ale grupului Rh, dar şi pentru unele slabe cînd reacţiile pot apărea negative. Sînt Ac specifici pentru hematiile Rh null sau cele care ar conţine numai Ag LW (D-like) (Dacie şi Worlledge, 1969; Eyster şi colab., 1970). Aceştia ar fi precursori ai substanţelor antigenice din grupul Rh (Weiner şi colab., 1953). S-a pus astfel în evidenţă specificitatea de subgrupe Rh (hr″, hr′) pe lîngă cele de grup LW, şi mai rar pentru JK şi K (Yokoyama, 1967).

Cercetarea specificităţii Ac de tip IgG în cadrul grupei Rh a arătat că aceştia nu fixează C′; pe hematiile cu IgG anti-Rh nu se găseşte fixat şi C′, iar pe hematiile unde se găseşte fixat acesta nu se găseşte Ac IgG (Leddy şi colab., 1970). După Müller-Eberhardt, legarea de C′ ar depinde însă de o anumită subclasă IgG fixîndu-se activ odată cu IgG_1 şi IgG_2 şi deloc cu IgG_4.

În tabelul nr. 35, după Leddy (1971) sînt sintetizate cele 4 tipuri de reacţii prin test Coombs în funcţie de prezenţa unei anumite IgG de legarea C′ şi de specificitatea Ac inclusiv cei la rece.

Referitor la structura Ac IgG se consideră că sînt mai ales din subclasa IgG_1; structura lanţurilor polipeptidice este normală şi în general monoclonală cu un singur tip de lanţuri uşoare sau grele.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul nr. 35

Caracteristica autoanticorpilor din A.H.A.I. în funcție de testele imunologice (după Leddy, 1971, modificat)

Tipul de test antiglobulinic	Caracterele biologice ale anticorpilor	Caracterele fizice ale anticorpilor	Specificitatea anticorpilor
1. Test anti-IgG	anticorp „la cald"; neaglutinanți; nefixatori de C′	7 S	anti-Rh sau anti-non-Rh
2. Test anti-IgG sau anti-C′	anticorp „la cald"; neaglutinanți; fixatori de C′	7 S	obișnuit anti-non Rh
3. Test anti-C′	a) aglutinine la rece b) hemolizină Donath-Landsteiner c) complexe anticorp — drog	19 S 7 S+19 S 7 S	anti-I sau anti-i anti-P (anti-Tja) anti-drog
4. Anti-IgM (sau anti-IgA) + + C′	anticorp „la cald"; neaglutinanți; fixatori de C′	19 S	fără specificitate sau panaglutinine

A. H. A. I. cu Ac la rece sînt mai rare ca cele prin Ac la cald, reprezentînd cam 25% din totalul de A. H. A. I. dobîndite.

Din punct de vedere *clinic* se disting o formă primitivă și forme secundare; A.H.A.I. à frigore constituie o a treia formă specială.

Formele primitive par să formeze o entitate clinică aparte descrisă ca „boală cu aglutinine la rece" (Evans, 1965; Leddy, 1971). Ca frecvență sînt rare, cam 7% din toate A. H.A.I. (Pirofsky, 1969). Manifestările clinice apar în anotimpuri reci prin crize de hemoliză acută însoțite în general de tulburări de acrocianoză tip sindrom Raynaud. Crizele de hemoliză acută pot să producă o deglobulizare rapidă pînă la un milion de eritrocite, cu hemoglobinurie și hemosiderurie. În sîngele periferic apare eritrofagia în monocite și granulocite și semne de regenerare după hemoliza acută cu reticulocitoză marcată, eritroblaști etc. Tulburările de tip Raynaud pot să constituie primele tulburări, repetîndu-se uneori ani de zile. În cazurile de asocieri la o boală prin complexe imune, ca în unele criopatii, se asociază erupții purpurice și artralgii în crize sau sub o formă cronică aproape permanentă. Splenomegalia apare în cursul evoluției, ajungînd uneori la dimensiuni mari. Tabloul este al unei boli hemolitice cronice cu icter permanent sau subicter care se accentuează în puseele acute.

Formele secundare survin după infecții virale, mai ales după pneumonia virotică sau după pneumonii mai rare cu micoplasma în general trecute ca neobservate. Aglutinine la rece cu titru patologic peste 1/32 apar cam la 20 — 50% din cazuri. La convalescenți însă, boala hemolitică apare numai la 6,3% din cazuri. La copii se citează cazuri după infecția cu citomegalovirus sub forme acute trecătoare sau permanentizate prin persistența în organism a virusului, condiționată de un deficit imun celular (Zuelzer și colab., 1970), ca și în cazurile cu Ac la cald pot să preceadă sau să însoțească boli maligne limfoproliferative sau o boală de colagen. În limfoproliferări maligne sînt însă mai rare, nedepășind 3% din cazuri. În bolile de colagen și în unele limfoproliferări au un caracter permanent, cu perioade de hemoliză moderată variabile și cu pusee de hemoliză acută. Multe din cazurile de limfoproliferări ca timoamele, L. S. și mai rar L. 1. cr. pot să debuteze printr-un puseu de hemoliză acută cu Ac la rece. Există apoi

cazuri cu hemoliză trecătoare după o infecţie gripală cu virus B; destul de rar apar în hepatitele acute virale sub formă de hemoliză trecătoare. Se pot instala sub formă cronică în ciroze şi în unele parazitoze ca malaria şi tripanosoniaze.

O formă mai particulară este cea după mononucleoza infecţioasă care poate să apară mai tîrziu, fiind trecătoare sau instalîndu-se ca o formă cronică. Avînd în vedere dereglările imune produse de virusul Epstein-Barr considerat specific pentru această boală se discută acum interrelaţii speciale între mononucleoza infecţioasă, dereglările imune şi patogenia limfoproliferărilor maligne.

În boala Waldenström, A.H.A.I. cu Ac la rece poate să dureze cu intensitate variabilă zeci de ani. Se distinge uneori greu caracterul de boală limfoproliferativă malignă primitivă de unele reacţii imunoproliferative, limfoplasmocitare, reactive secundare, faţă de boala hemolitică însăşi cu caracter primar (Berceanu, 1969; Pirofsky, 1969). Analiza imunoelectroforetică poate să distingă caracterul monoclonal al proliferării maligne de caracterul policlonal al proliferării reactive.

Modificările imunoserologice sînt caracteristice şi destul de bine-precizate, dovedindu-se aproape în toate formele primare sau secundare prezenţa de Ac la rece. După metodologia de lucru se disting Ac liberi în ser care sînt IgM şi se comportă ca Ac completi, aglutinine sau hemolizine. Prin testul Coombs se pun în evidenţă şi Ac incompleţi blocanţi care sînt globuline non-gamma, reacţionînd numai la testul cu ser anti-non-gamma sau cu ser specific anti-C′. Prin eluţie s-a arătat că în marea majoritate a cazurilor Ac eluaţi incomplet sînt fracţiuni de C′ ($beta_1A$ sau $beta_1C$), uneori asociaţi cu IgM.

După temperatura la care se pun în evidenţă Ac se detectează în concentraţii cu titruri foarte mari pînă la 10^{-6} sau în titruri mai scăzute pînă la 10^{-3}, în anumite faze putînd chiar să dispară. Testul la rece în jur de 4°C arată că aglutininele se comportă ca panaglutinine, producînd hemaglutinarca oricărui grup sanguin. În titruri mari pot să fie activi chiar la temperaturi mai înalte pînă la 20°C, pe cînd în titruri mici sînt activi numai la 4°C. În condiţii de fixare a C′ se comportă ca hemolizine, producînd hemoliza la 4°C, chiar cu un titru mai scăzut. Nu se dovedeşte însă o relaţie sigură *in vivo* între titrul Ac şi activitatea lor dependentă de temperatură.

În perioada de hemoliză, C′ seric în general scade fixîndu-se pe hematii. Se detectează prin testul Coombs anti-nongamma şi uneori şi prin testul Coombs anti-gamma cînd eluţia arată şi o fixare de IgM şi foarte rar de IgG (Leddy, 1971). Hemoliza este determinată de fixarea C′ şi a aglutininelor IgM, însă după ce a trecut perioada de criză acută IgM dispare şi hematiile sînt îmbrăcate numai cu C′, care persistă legaţi şi pot fi detectaţi şi la cald. În statistica lui Worlledge, din 114 cazuri apar numai 22 cu aglutinine şi hemolizine libere şi cu test Coombs anti-nongamma. În afara crizelor de hemoliză acută sau în formele cronice moderate, examenele serologice pot să arate un test Coombs direct cu ser anti-nongamma, prin C′ blocat pe hematii; în ser se pot pune în evidenţă aglutinine sau hemolizine la rece cînd titrul este suficient de mare. Cînd titrul este scăzut acestea se pot detecta printr-un test Coombs anti-gamma indirect mai ales după tratarea prealabilă a hematiilor cu enzime proteolitice.

Scanned with OKEN Scanner

Testul Coombs cu ser anti-nongamma apare specific pentru A.H.A.I. cu Ac la rece (Worlledge, 1965).

Natura specifică a aglutininelor sau hemolizinelor de tip IgM se determină după eluţia lor după hematii în perioada acută sau prin cercetarea activităţii lor din serul bolnavilor cînd se găsesc în titru suficient. Ca structură moleculară, Ac IgM (19 S) sînt în genere monotipici, cu lanţuri kapa ca în boala Waldenström, în formele secundare infecţiilor virotice sînt în general biclonale cu lanţuri kapa şi lambda, eterogenitatea lor crescînd în criopatiile din infecţiile cronice şi boli autoimune (Cooper, 1968).

Ca specificitate de grup în toate cazurile, cu cîteva excepţii de boală hemolitică secundară, Ac hemolitici la rece sînt izo-Ac, anti-I. Grupul sanguin I se găseşte, după Weiner şi colab. (1953), la toţi indivizii. Pe 22 000 de teste au lipsit numai în 5 cazuri care posedă grupul antigenic denumit i (Dacie, 1965). În cordonul ombilical se găseşte la toţi indivizii, apoi dispare fiind înlocuit de grupul I aparent legat de grupul ABO. Apariţia Ac anti-i ca aglutinine la rece după mononucleoza infecţioasă este determinată de o dereglare imună policlonală. Ei sînt diferiţi de eteroglutininele prin care se pune diagnosticul de mononucleoză infecţioasă, persistînd după absorbţia acestora cu hematii de animale. Incidenţa lor este însă rară, apărînd la 1 — 5% din cazuri (Wolheim şi Williams, 1966).

Anemia hemolitică paroxistică la frig este prima A.H.A.I. pusă în evidenţă ca atare, precizîndu-se caracterul bifazic al Ac, hemolizinele Donath-Landsteiner (1904). Ca frecvenţă, boala este însă foarte rară, cel puţin pentru unele regiuni ale globului; la noi în ţară, în 1928, Lupu şi Brauner au descris primele cazuri. În statistici recente (Worlledge, 1965; Leddy, 1971) apare cu oarecare frecvenţă, fiind considerată mai ales ca secundară infecţiilor sifilitice în perioada tardivă cu seroreacţii încă pozitive. Se crede că poate fi primitivă sau secundară altor infecţii cronice microbiene, virotice sau parazitare.

Clinic se caracterizează prin atacuri acute de hemoliză paroxistică, cu hemoglobinurie şi hemosiderurie. La cîteva ore după expunerea la frig, starea generală a bolnavului se alterează grav : senzaţie de frig cu frisoane, dureri lombare şi în musculatură, crampe abdominale. Pot să apară fenomene de acroasfixie cu sindrom Raynaud, cu parestezia degetelor de la mîini şi de la picioare, a nasului şi urechilor şi uneori cu urticarie generalizată. Apare hemoglobinuria cu urini colorate, care poate să dureze cîteva zile. Starea de şoc prin hemoliză masivă poate să producă o insuficienţă renală acută.

În sîngele periferic, hematiile scad pînă la un milion şi 4 — 5 g hemoglobină. Durata de viaţă a hematiilor este în jur de 2 — 3 zile, iar hemoglobina liberă în plasmă depăşeşte pragul renal de eliminare de 20 — 30 mg%. Leucocitele pot să fie scăzute în perioada de şoc, apoi cresc ca o reacţie la hemoliză, iar în unele monocite şi granulocite se remarcă eritrofagia.

Examenul serologic este caracteristic : prezenţa de hemolizine cu acţiune bifazică, fixîndu-se la rece (4°C) pe hematii, iar la cald fixîndu-se C′ prin care se produce hemoliza. În perioada de liză, hematiile bolnavului prezintă un test Coombs direct anti-gamma pozitiv, ceea ce înseamnă că hemolizinele sînt de tip 7S IgC. După hemoliză, testul Coombs direct

Scanned with OKEN Scanner

dispare, persistînd un test Coombs direct pozitiv cu ser anti-C′ (anti-nongamma). În criză, C′ scade, fiind fixat pe hematii unde s-a dovedit acţiunea sa pe membrane ca factor predominant în producerea hemolizei. În titruri mai scăzute aglutininele nu mai produc reacţie bifazică hemolitică, ci se pot fixa pe hematii dînd un test Coombs pozitiv cu ser anti-gamma.

Specificitatea aglutininelor Donath-Landsteiner a fost dovedită cercetîndu-se activitatea celor libere în ser sau după eluarea după hematii (Worlledge, 1965 ; Dacie, 1965). Sînt izo-Ac faţă de Ag grupului P şi anume faţă de subgrupele P_1, P_2, $P + P_1 + PK$ şi mai ales faţă de TjA.

Anemiile hemolitice prin sensibilizare la droguri au fost semnalate în ultimii 20 de ani, alături de celelalte hemocitopenii prin sensibilizarea la Sedormid, bine studiate iniţial de Ackroyd (1954, 1962) şi concomitent de Harris în sensibilizările la stibophen (1956). După 1960, cercetările lui Shulman deschid noi căi în înţelegerea patogenică a hemocitopeniilor prin sensibilizare la droguri, care completează mecanismele presupuse de primii autori.

Studiul sensibilizărilor la penicilină după administrarea prelungită de doze mari, precum şi al sensibilizărilor la alfametildopa constituie şi acum, alături de celelalte droguri, modele de boală autoimună la om prin sensibilizare la Ag nonself (Levine şi Redwood, 1967 ; Gralnick şi colab., 1967 ; White şi colab., 1968).

Semnele clinice sînt de intensitate variată şi ancheta anamnestică arată dependenţa lor de administrarea unui drog. Hemoliza poate avea un caracter acut, de multe ori asociată cu purpură trombocitopenică sau vasculară, şi mai rar cu agranulocitoză. Există cazuri cînd hemoliza este redusă, cu anemie uşoară care poate să continue cît durează administrarea drogului. În tratamentele complexe prelungite din tuberculoză, hemoliza prin sensibilizare la unul sau mai multe medicamente antituberculoase poate să fie de durată foarte lungă. Hemoliza prin sensibilizare la alfa-metil-dopa este în general redusă şi apare la un număr mic de bolnavi (Worlledge şi colab., 1966) deşi procentajul de modificări serologice cu test Coombs pozitiv apare la peste 20% din cazurile care au luat doze mari de medicamente (Feltkamp şi colab., 1968). Condiţiile de apariţie sînt comparabile cu inducerea bolii lupice clinice sau numai serologice după droguri.

Diagnosticul etiologic se precizează clinic prin înlăturarea drogului care face să dispară simptomele de hemoliză, iar în ser să diminue treptat modificările serologice specifice.

Modificările serologice şi patogenia lor. Deşi există numeroase clase de droguri sensibilizante studiate pînă în prezent, patogenia hemolizei se consideră comună. În perioada de administrare a drogului, cînd apar semne de hemoliză, examenul serologic arată prezenţa Ac incompleţi IgG fixaţi pe hematii şi care dau test Coombs pozitiv direct cu ser anti-gamma. Sînt mai rare cazurile cu test Coombs pozitiv prin Ac IgM sau IgA (Levine şi colab., 1967). Testul Coombs cu ser anti-C′ este în genere negativ sau slab pozitiv.

Cercetările făcute în sensibilizările la penicilină arată că bolnavii cu test Coombs direct pozitiv posedă Ac ani-penicilină de tip IgG, liberi în ser. Există însă şi Ac IgM specifici faţă de grupul haptenic benzil-peniciloid care însă nu se fixează pe hematii şi nu produc leziuni imune hemolitice.

Scanned with OKEN Scanner

Specificitatea apare şi faţă de grupul haptenic benzyl-penaldy, fără a se putea preciza care este tipul de Ag penicilinice ce determină o anumită sensibilizare cu acţiune hemolitică.

Unele date serologice sînt foarte semnificative pentru interpretarea mecanismului de hemoliză. Dacă se întrerupe administrarea drogului, hemoliza încetează chiar dacă există încă Ac anti-drog în circulaţie. Dacă se administrează la bolnavi hematii normale acestea au o durată de viaţă normală, pe cînd hematiile bolnavului prezintă o scădere accentuată. În studiile făcute în hemoliza prin stibophen, hemoliza şi testul Coombs dispar dacă se elimină drogul, deşi în ser persistă încă Ac anti-drog. Transfuzia de 300 ml de plasmă cu aceşti Ac, la om normal, arată că aceştia nu sînt hemolitici şi nu determină un test Coombs la primitor. Dacă concomitent se administrează şi o anumită cantitate de drog sensibilizant, apare hemoliza şi testul Coombs se pozitivează la primitor. De remarcat în sensibilizarea cu stibophen şi cu alte droguri uneori că Ac sînt IgM fixatori de C′ care se determină prin testul Coombs anti-C′, pe cînd testul Coombs cu ser anti-gamma este în general negativ. De remarcat că atunci cînd apar şi Ac anti-trombocitari aceştia sînt de tip IgG, ceea ce demonstrează că acelaşi drog poate să determine o sensibilizare complexă cu producerea de mai multe clase Ig cu afinitate diferită pentru C′ şi pentru celulele sanguine, hematii sau trombocite.

Pe baza acestor date serologice încă mai demult s-au formulat două mecanisme patogenice pentru hemolizele prin sensibilizare la droguri : 1) ipoteza mecanismului imun prin sensibilizare haptenică în care Ag determinante ale drogului formează un complex imunizant prin legarea de anumite fracţiuni celulare sau plasmatice (Ackroyd, 1954); 2) ipoteza complexelor imune (Shulmann, 1963) în care Ag fixează Ac care dau complexe imune în genere cu fixare concomitentă de C′. Întrucît Ag se fixează pe membranele hematiilor şi a altor celule sanguine (trombocite, granulocite), complexele imune formate produc citoliza hemocitopenizantă. Particularităţile tulburărilor imune serologice pledează mai ales pentru această ipoteză : boala hemolitică, ca şi celelalte hemocitopenii prin droguri în ipoteza lui Shulmann nu sînt consecinţa unei leziuni autoimune, întrucît Ac nu sînt anti-eritrocit sau anti-trombocit. Acestea sînt lizate secundar consecinţă a reacţiilor Ag-Ac care se produc pe membranele celulelor ce participă în reacţii ca „inocents bystander" (participanţi inocenţi).

În sensibilizarea prin alfa-metil-dopa mecanismul de imunizare este de alt tip aşa că apar Ac IgG autoimuni, cu test Coombs pozitiv la cald şi chiar cu specificitate anti-Rh. În general se produc concomitent Ac anti-nucleoproteină cu teste pozitive celulare şi serologice specifice boalei lupice (Scott şi colab., 1968); asociaţia de A. H. A. I. şi semne serologice de L.E.D. nu este obligatorie.

Fiziologia hemolizei autoimune ridică două probleme importante : 1) natura dereglării imune şi producerea de auto-Ac antieritrocitari specifici sau nespecifici; 2) mecanismul de liză al hematiilor *in vivo* prin auto-Ac hemolitici.

1) Cercetările experimentale şi o privire sintetică asupra condiţiilor de producere a A.H.A.I. secundare la om au conturat cîteva mecanisme foarte bine caracterizate de Van Loghem (1965) şi recent de Schubothe

(1969) : a) alterarea structurilor Ag eritrocitare prin infecţii virale, prin toxine, droguri, toxine microbiene sau toxine endogene ca în uremie. Fiecare din aceşti agenţi pot să activeze ca haptene şi să producă o reacţie imună faţă de complexe antigenice cu formarea de Ac anti-eritrocitar. Acţiunea lor pe hematie poate să determine „demascarea" anumitor Ag faţă de care există o toleranţă slabă şi astfel să apară Ac specifici de grup ca Ac anti-Rh, anti-I, anti-i etc. Pe de altă parte, aceiaşi agenţi, inclusiv particulele virale persistente în organism, pot să determine o scădere a toleranţei acţionînd ca adjuvante ca în modelele experimentale (Weigle, 1963 ; Mitchison, 1968 etc.) ; b) ruperea toleranţei apare ca un mecanism special în condiţii de hiperimunizare sau la bolnavi cu deficit înnăscut de toleranţă unde apar dereglări imune mai complexe. Se explică A.H.A.I. asociată cu alte boli autoimune, precum şi cele din stările de deficit imun. Acţiunea Ag cross-reactante care pot să intervină în infecţiile virale sau în evoluţia unor tumori ca cele ovariene sau gastrice (Van Loghem, 1965) determină producerea de Ac faţă de anumite Ag eritrocitare, iar acţiunea lor îndelungată condiţionează în plus scăderea toleranţei imune ; c) mutaţia celulelor imunologic competente prin procesul de malignizare ca în limforeticulozele maligne sau chiar în stări de proliferare imunoreactivă prelungită are două consecinţe : apar linii celulare care nu recunosc Ag proprii şi reacţionează faţă de acestea ; proliferează şi devin active liniile celulare considerate drept „clone interzise" care răspund de toleranţa genetică înnăscută (Burnet, 1958).

Pe lîngă aceste mecanisme posibile în patogenia tuturor formelor de A. H. A. I., în forma cu Ac la rece intervine de multe ori o stimulare de creştere a aglutininelor la rece normale, fenomen asupra căruia insistă Van Loghem (1965). Se ştie că aglutininele la rece se găsesc normal în titruri mici de 1/8 — 1/16, titruri în care nu se produc tulburări şi nu se fixează C′ cu efect nociv pe hematie.

2) Mecanismul de liză al hematiilor este considerat ca tip de leziune citotoxică prin acţiunea directă a Ac pe membrană, adică tipul I de leziune din clasificarea lui Coombs şi Gell (1968). Hemoliza apare prin Ac completi, hemolizine, cu sau fără fixare de C′. Leziunile prin Ac incompleţi sînt discutabile întrucît există frecvent o stare de boală serologică cu test Coombs pozitiv, fără hemoliză şi cu durata de viaţă a hematiilor normală. Este foarte posibil ca Ac incompleţi, de o anumită concentraţie, să producă modificări de membrană, astfel ca hematiile să fie „sechestrate" în ficat şi în splină, în măduva osoasă, unde sînt distruse de către macrofage prin mecanismul de hemoliză intracelulară. În cazurile în care pe membrana hematiilor se găsesc numai fracţiuni de C′, în general numai primele fracţiuni, nu se produce hemoliză, ci numai unele modificări de permeabilitate cu alterări ale raportului volum/suprafaţă care diminuă elasticitatea hematiilor şi facilitează sechestrarea şi distrugerea lor (Weed şi colab., 1968), (fig. 29).

După concentraţia Ac în ser, afinitatea lor pentru hematii şi gradul de fixare a C′ se poate produce o hemoliză acută intravasculară sau una lentă cu sechestrare şi liză intracelulară. Dacă concentraţia de Ac blocanţi sau de C′ fixaţi pe hematie este mică, deşi există un test Coombs pozitiv şi chiar Ac circulanţi în plasmă, nu se produce hemoliză.

Scanned with OKEN Scanner

Asupra mecanismului intim de hemoliză prin Ac s-a atribuit un rol deosebit C′ (Rosse şi colab., 1967), care produc „pori" în membrană dereglînd transportul selectiv de cationi şi producînd umflarea hematiei şi ruperea hemoglobinei, fenomen posibil în boala hemolitică cu Ac la rece unde fixarea de C′ este constantă. Cum există foarte multe stări de hemoliză fără fixare de C′ sau invers hematii cu C′ fixat fără hemoliză se dovedeşte că Ac sînt necesari pentru declanşarea unui puseu de hemoliză (Evans şi colab., 1967).

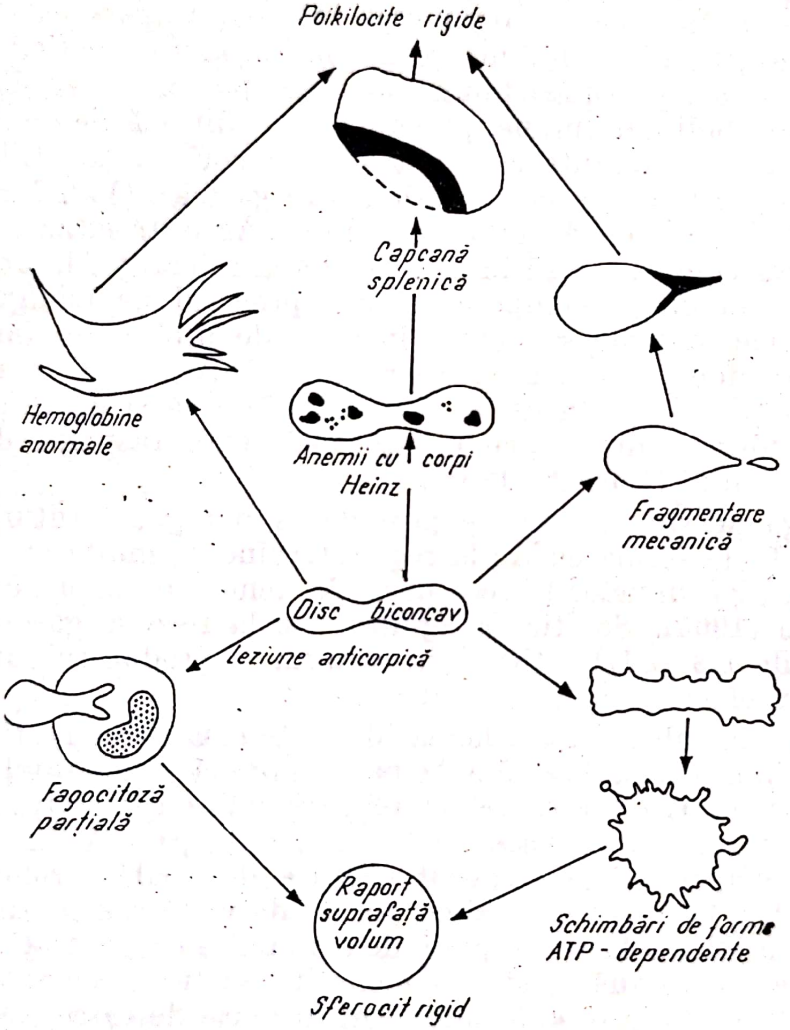


Fig. 29. — Schema mecanismelor de hemoliză în funcţie de modificarea indicelui de elasticitate globulară (după Weed, 1968).

Hemoliza intracelulară în organele de sechestrare se poate produce concomitent cu o hemoliză intravasculară cu crizele acute: apare hemoglobinurie concomitent cu eritrofagie chiar în sîngele periferic. Se poate ca acţiunea directă a C′ sau a Ac pe membrană să producă nu o hemoliză totală, ci numai rupturi de membrană (Weed, 1968), fenomen care diminuă suprafaţa şi scade raportul faţă de volum. Tendinţa de sferocitoză apare după pierderea de suprafaţă a membranelor, creînd o scădere a filtrabilităţii şi plasticităţii hematiilor (Jondl, 1961; Teitel, 1967).

Scanned with OKEN Scanner

În figura 29 sînt arătate condiţiile variate de hemoliză, inclusiv ale celor autoimune intravasculare sau intracelulare care, toate, determină o rigiditate a hematiilor; scăderea plasticităţii lor face imposibilă traversarea porilor din membranele sinusoidale care au maximum 3/μ diametru astfel că hematiile rămîn sechestrate în organele sinusoidale.

Indicaţii generale de terapie. Etiopatogenia variatelor forme de A. H. A. I. scoate în evidenţă situaţii în care este posibilă o terapie etiopatogenică şi chiar profilactică. În A.H. prin droguri se poate preveni apariţia lor prin limitarea la timp sau întreruperea unui drog dacă a dat semne de sensibilizare generală. Anumite teste imune de sensibilizare, ca testul Coombs, pot să indice întreruperea drogului înainte de apariţia hemolizei clinice.

În A. H. prin Ac la rece şi în special în forma paroxistică à frigore, crizele de hemoliză cu fenomene clinice premonitorii ca sindromul Raynaud sau testul Rosenbach (hemoliză după imersiunea mîinilor în apă rece), pot să fie prevenite prin evitarea frigului sau a contactului cu corpuri reci. Avînd în vedere că multe din A. H. prin Ac la rece se tratează greu patogenic, profilaxia recăderilor prin evitarea expunerii la frig este cea mai recomandată.

Terapia curativă a A. H. A. I. în formele evolutive sau cu crize repetate acute se face curent cu corticoterapie. Se ştie că răspund bine la corticoterapie, în doze moderate de 40 — 50 mg delta-cortizon/zi, A.H.A.I. prin Ac la cald, primare sau secundare. Răspund prost sau deloc cele prin Ac la rece. Cantitatea de cortizon depinde însă de severitatea cazului necesitînd uneori doze per os şi intravenos echivalînd cu 80—100 mg prednison/24 de ore. În toate cazurile urmărite de noi (Berceanu şi colab., 1973), oricît de severe, s-a obţinut oprirea hemolizei după 2—4 săptămîni de terapie. Uneori, însă dozele mari sau moderate trebuie administrate continuu 2 — 3 luni. În cazurile în care testul Coombs nu se negativează este nevoie de o terapie continuă, cu doze moderate, pentru a preveni recăderile. Răspunsul este bun cam la 2/3 din cazuri, iar la 5 — 10% din cazuri răspunsul este prost, fiind intermediar în restul cazurilor (Leddy, 1971). În formele secundare limfoamelor maligne sau bolilor de colagen este indicată terapia bolii de bază; în limfoamele maligne există cazuri în care generarea de auto-Ac nu încetează decît după suprimarea sau diminuarea masei de celule care secretă auto-Ac.

În cazuri de recidivă, în forma de hemoliză primară se recomandă splenectomia. Efectul este optim, cu vindecare, dacă sechestrarea maximă de hematii este în splină. Se recomandă splenectomia chiar dacă sechestrarea predomină în ficat, putîndu-se obţine uneori o ameliorare importantă. Cazurile rezistente la splenectomie necesită o terapie cortizonică continuă.

În formele secundare de cauze diverse cu splenomegalii sau numai cu sechestrare splenică importantă, splenectomia aduce un beneficiu deosebit chiar în limfoamele maligne cu hipersplenism.

Formele de A. H. A. I. prin Ac la rece primitive sînt în general rezistente la corticoterapie şi la splenectomie. În cazurile cu sechestrare predominant splenică, splenectomia poate să dea însă rezultate bune. În toate formele rezistente se recomandă o terapie imunosupresivă cu citostatice,

Scanned with OKEN Scanner

ca Imuran, Endoxan, Leukeran, care pot da rezultate bune, prevenind în orice caz crizele acute de hemoliză.

A. H. prin sensibilizare la droguri se vindecă totdeauna prin suprimarea drogului sau a altui agent sensibilizant. În cazuri severe cu anemie acută se poate administra cortizon, care este însă fără efect dacă nu se suprimă drogul.

Transfuziile de sînge în orice fel de boală hemolitică este bine să fie evitate. Majoritatea cazurilor urmărite de noi au răspuns bine la cortizon fără transfuzii atîta timp cît rezervele eritropoetice sînt normale. Aportul de hematii prin transfuzii este uneori imposibil avînd în vedere că pot să existe panaglutinine active față de orice grup sanguin, ca în unele cazuri cu aglutinine la rece și în numeroase cazuri secundare limfoamelor maligne. În aceste situații se va aștepta efectul corticoterapiei sau al terapiei etiopatogenice (citostaticele pentru limfoamele maligne) și se va administra sînge numai dacă există un deficit de eritropoeză. În cazuri extreme cu hemoglobină sub 4 g se pot face transfuzii de hematii spălate concomitent cu doze mari de hemisuccinat de cortizon intravenos. Aportul de sînge total este contraindicat, avînd în vedere aportul concomitent de C′ care poate să accentueze hemoliza.

B. PURPURE TROMBOPENICE PRIN DEREGLĂRI IMUNOLOGICE

Implicarea mecanismelor de dereglare imună în patogenia purpurelor trombopenice (P.T.) a apărut în 1950, cînd Harrington găsește Ac trombocitopenizanți la 75% din cazuri de P. T. idiopatică, iar Ackroyd demonstrează apariția aglutininelor în P. T. după droguri care produc o hipersensibilizare printr-un mecanism de haptene. Pînă în 1960 s-au folosit multe tehnici pentru punerea în evidență a auto-Ac antitrombocitari, însă toate au fost contestate dînd rezultate negative sau nespecifice.

După 1963, Shulman precizează mecanismul cu trombocitoaglutinare după sensibilizare la droguri și tot de atunci se descriu cazuri din ce în ce mai numeroase de P. T. prin izoimunizare (Dausset, 1971).

P. T. cu mecanisme autoimune, cu prezența de Ac auto sau izo sau de Ac față de complexele antigenice cu droguri, se pot clasa în 3 grupe :

1) P. T. idiopatice sau esențiale acute sau cronice,

2) P. T. prin izoimunizare după transfuzii repetate sau postnatale la copiii născuți din mame cu Ac anti-plachetari sau prin incompatibilitate de grup plachetar între mamă și făt,

3) P.T. după sensibilizare la droguri.

Grupele 1 și 2 se subîmpart în mai multe subgrupe, fiecare determinată de un mecanism mai mult sau mai puțin precizat prin unele tehnici considerate ca specifice.

Purpura trombopenică idiopatică cuprinde forma clasică de purpură Werlhof, așa cum a fost caracterizată de Harrington (1956). Ținînd seama de unele separări făcute recent, se individualizează forma acută care apare la copil și forma cronică care apare la adult (Aster, 1972 ; Gardner, 1971).

Manifestările clinice sînt cele descrise în boala Werlhof clasică la copii și adolescenți, bine precizate în tratatele clasice (Heilmeyer, Win-

trobe, Emil Popescu, Berceanu) : puseu inițial acut de purpură cu scădere mare de trombocite pînă la 15 000 sau chiar pînă la aplachetoză. Sîngerările viscerale sînt mai rare, însă la fetițe la pubertate metroragiile și menoragiile pot să fie foarte grave. Pot exista hemoragii digestive și mai rar hemoragii meningocerebrale care pot să fie mortale.

Morfologic, trombocitele sînt în general mari, cu marcată anizocitoză și bogat material bazofil, dînd aspect de imaturitate. În perioadele de purpură se pot însoți de reacții leucocitare, mai ales în hemoragiile viscerale cu anemie acută. În măduva osoasă se găsesc modificările descrise de Werlhof și Frank și recunoscute în tratate recente ca semnificative (Williams, 1972). Există un număr normal dar mai des crescut de megacariocite, care însă au un aspect de megacariocite tinere de multe ori cu megacarioblaști sau cu megacariocite tinere cu citoplasmă predominant bazofilă cu zone limitate generatoare de trombocite. Citoplasma este mai săracă, rare trombocite par să se producă direct din nucleu. În alte cazuri pot să predomine megacariocitele evoluate ca poliploidie nucleară însă cu citoplasma bazofilă neformatoare de plachete sau cu citoplasmă cu aspect degenerat, eozinofilă. Aceste forme degenerate apar însă mai ales în trombocitopeniile idiopatice de la adult. Nu se știe dacă hiperplazia de forme tinere este un efect al inhibiției în trombocitopoeză de cauză splenică, cum s-a crezut în boala Werlhof, sau din contra este un efect proliferativ compensator al lizei plachetelor în periferie. De amintit că formele degenerate pot să fie consecința tot a unui efect citotoxic prin Ac antitrombocitari activi atît pe plachetele periferice, cît și pentru megacariocite. Tulburările de maturație pot să existe și să fie determinate de alte mecanisme prin analogie cu tulburările de maturație de A.H.A.I. acută cu consum de factori de maturație sau prin însuși efectul blocant inhibitor al reacțiilor imune.

În cazurile considerate acute de P.T. la tineri există o evoluție scurtă, de cîteva săptămîni, după care se vindecă cu sau fără tratament. Se găsesc însă cazuri care se prelungesc cîteva luni sau în care survin mai multe recăderi. În formele mai prelungite apare splenomegalia moderată și ușoară hepatomegalie. Un procentaj discutabil de cazuri se cronicizează prin pusee repetate care însoțesc trecerea de la copilărie la pubertate și apoi la vîrsta adultă.

Forma cronică descrisă aparte de autorii anglo-saxoni citați apare la adult, predominînd la femei în proporție de 65—70%. Este adevărat că există un debut de boală idiopatică la adult chiar la vîrsta înaintată, după 50 — 60 de ani, și care evoluează în general spre forma cronică. Un mare număr de cazuri cronice au debutat însă în copilărie și s-au prelungit ca purpură cronică cu perioade lungi de remisiuni sau cu recăderi foarte frecvente dacă nu s-a făcut splenectomia. Din experiență proprie, considerăm că este foarte greu să se facă o diferențiere tranșantă între P. T. idiopatică acută și cea cronică : criteriile de vîrstă, diferențele clinice sanguine sau imunologice nu sînt concludente, deoarece cele două forme sînt cu totul asemănătoare. Distincția se poate face numai ca modalitate de evoluție : există forme cu unul sau mai multe pusee acute care se vindecă indiferent de vîrstă sau sex ; există forme care evoluează cu pusee repetate și se cronicizează din copilărie sau la adult. Acestea sînt cele mai multe, după unele statistici reprezentînd 70% din purpurele idiopatice.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismele etiopatogenice par să fie însă diferite pentru formele acute pasagere la copii faţă de cele de la adult sau de la pubertate care se cronicizează. În 80 % din cazuri la copii apar după infecţii microbiene şi mai ales virotice, precum şi după vaccinările primei copilării.

Debutul apare la 2 — 15 zile după vaccinare sau după o infecţie virală ca febrele eruptive, pojar, varicelă, rubeolă, oreon. Mecanismul este asemănător cu cel din A. H. postvirotică : virusul ataşat pe membrana trombocitară formează complexe antigenice cu producere de Ac cross-reactanţi pentru trombocite. Un efect direct aglutinant al trombocitelor prin virus sau toxină bacteriană poate să determine sechestrarea şi distrugerea trombocitelor în ficat şi în splină cu apariţia unui puseu acut de purpură trombopenică. Frecvenţa mai mare a puseelor acute în sezoanele reci se atribuie infecţiilor crescute în această perioadă (Choi şi McClure, 1967).

Patogenia la femeia adultă, dar şi la fetele în pubertate, pare să fie legată de variaţiile în secreţia de oestrogeni, crescuţi înainte de menstră, cu exacerbări prelungite înaintea pubertăţii şi înainte de menopauză. Aceşti hormoni ar creşte pe de o parte afinitatea trombocitelor pentru virusuri şi toxine microbiene şi pe de altă parte ar activa funcţia macrofagică a S.R.E. pentru trombocitele modificate (Doan şi colab., 1960), deşi infecţiile virale diminuă această activitate.

Se consideră că în infecţiile acute la copii există scăderi mari de plachete prin distrugerea lor care eliberează cantităţi importante de fosfataze acide în ser, însă aceasta se întîmplă şi la adult cu scăderi de plachete pînă la aplachetoză (Berceanu şi colab., 1957).

Mecanismul imunologic şi testele specifice serologice sînt asemănătoare în formele acute sau cronice (Gardner, 1971 ; Aster, 1972). Cercetările făcute pe un număr mare de bolnavi în ultimii 20 de ani au pus în evidenţă, prin diferite metode, prezenţa de Ac cu specificitate contestabilă şi au dovedit însă sigur *in vitro* prezenţa aproape constantă a unui factor trombocitopenizant în plasma bolnavilor de P. T. I. acută sau cronică.

Prezenţa aglutininelor antiplachetare, la cald sau la rece, a fost susţinută de mulţi autori, sub influenţa lui Harrington, Dausset, Steffen etc. Serul bolnavilor conţine un factor trombocitopenizant care este considerat ca auto-Ac, avînd caractere de IgG 7S (Shulman, 1965), şi, mai rar, 19S (Tullis, 1962). Rezultatele pozitive prin testul de aglutinare, ca şi prin metoda Steffen sau testul Coombs, pentru trombocite (Stefanini-Dameshek, 1962), nu au fost confirmate de alţi autori nici în P. T. I. şi nici în majoritatea formelor secundare prin hipersplenism. În plin puseu de trombocitopenie severă nu se găsesc Ac prin nici una din metodele folosite curent. După statisticile actuale apar aglutinine la rece sau la cald în P. T. I. cam în proporţie de 5 — 10 %, ceea ce nu diferă de procentajul găsit la martorii normali (Cohen şi colab., 1961 ; Shulman, 1965). Testele de consumpţie anti-IgG susţinute ca pozitive mai ales de Steffen şi Moulinier (1964) sînt în general negative sau nespecifice.

Rezultatele testărilor *in vitro* se pare deci că nu confirmă natura de boală autoimună a P.T.I. Există însă acum unele date care pe baza antigenităţii specifice a plachetelor, pot să susţină un mecanism autoimun în această boală. Se crede că rezultatele negative *in vitro* se datoresc insuficienţei acestor teste pentru studiul imunologic al trombocitelor şi

Scanned with OKEN Scanner

antigenității lor slabe. Argumente pentru natura autoimună în P.T.I. se bazează acum pe unele teste *in vivo* la bolnavi sau la normali și chiar la animal cu ser de la bolnav. Cele mai concludente sînt următoarele:

1) Efectul trombocitopenizant al plasmei de bolnav transfuzată la normal este în funcție de dozele folosite (Shulman, 1965), care variază de la 0,4 pînă la 6 ml/kilocorp. Scăderile sînt imediate, ajungînd la 20 000 trombocite, rămîn în platou 2—3 zile, revenind la normal numai după 6—9 zile. Harrington a descris concomitent fenomene de reacție anafilactică și apariția de purpură. După Shulman, acestea se întîlnesc numai în transfuziile de plasmă cu Ac izoimuni și nu în P.T.I. De remarcat că injecția de plasmă de P.T.I. la o persoană splenectomizată nu produce efectul trombocitopenizant decît dacă se injectează cantități foarte mari, 14 ml/kilocorp. Se mai remarcă apoi că absorbția prealabilă a plasmei cu o cantitate suficientă de plachete inhibă efectul acesteia. Cantitatea de plachete necesară unei absorbții complete a factorului trombocitopenizant este egală cu masa de plachete circulante, care dispar din circulație la individul perfuzat.

2) Efectul trombocitopenizant al plasmei la animal (iepure, cîine), obținut de către unii autori, este criticat în prezent întrucît ar exista o specificitate de specie. Unele efecte s-ar obține numai cu plasma de P.T.I. la maimuța *Rhesus* cu doze mari, 10—15 ml/kilocorp; aceste scăderi par să fie nespecifice, obținîndu-se cantități asemănătoare de plasmă normală. După experiență proprie credem că se pot obține efecte trombocitopenizante de lungă durată, timp de 2—3 zile, care sînt specifice; scăderile prin plasma normală durează maximum 8—12 ore (Berceanu și colab., 1957).

3) Efectul trombocitopenizant al plasmei sau serului asupra trombocitelor proprii (autotrombocitopenie): conservîndu-se plasma prin înghețare la —20°C și apoi reinjectată în perioada de remisiune, cînd plachetele au crescut ca număr, se obțin scăderi tipice ca și cele obținute prin injecție la alt individ normal. Trombocitopenia prin plasmă autologă durează cîteva zile și este însoțită de erupții peteșiale și de creșterea timpului de sîngerare.

4) Scurtarea duratei de viață a trombocitelor normale injectate la bolnavi cu P.C.J. constituie un test de mare importanță. El a fost pus la punct prin tehnicile de marcare cu izotopi a plachetelor. Urmărindu-se curbele de scădere a radioactivității sanguine, se știe acum că durata de viață a trombocitelor este în medie de 9 zile (Devey și Lander, 1964). Splenectomia la normali nu influențează durata de viață. Urmărindu-se localizarea în organe a trombocitelor marcate s-a văzut că aceasta este maximă în splină și în ficat după 8 zile; există o predominanță de sechestrare în splină cu un raport al suprafețelor de dispersiune de 1,7/1 (fig. 30).

Injectîndu-se plachete normale marcate cu ^{51}Cr la bolnavii cu trombocitopenie de tip P.T.I. se constată o scădere marcată a duratei de viață a trombocitelor, radioactivitatea sanguină diminuînd rapid din prima zi. Sechestrarea este maximă în splină după cîteva zile, deși există o sechestrare imediată și în ficat. După datele recente, cu metode speciale scintigrafice (Devey și Lander, 1964; Najean și colab., 1963; Shulman, 1972), repartizarea maximă în splină este caracteristică pentru P.T.I.; aceasta a constituit o indicație bună pentru splenectomie. Se pare că în cazurile cu trombocite mai grav afectate, așa cum se întîmplă în sensibilizările prin izoanticorpi

Scanned with OKEN Scanner

antitrombocitari cu titru înalt, localizarea maximă este în ficat, în splină localizîndu-se trombocitele mai puţin alterate (Aster şi Jandl, 1964). S-a dovedit însă că, corticoizii administraţi cu cîteva zile înainte scad efectul trombocitopenizant al plasmei de P.T.I.

Un test indirect care relevă liza periferică plachetară este creşterea fosfatazelor acide în plasmă; aceste enzime, care provin din distrugerea plachetelor, constituie un element de diagnostic precoce pentru trombocitolizele autoimune acute sau cronice. Prezenţa lor în absenţa Ac antiplachetari poate să constituie un element de diagnostic pentru P.T.I. (Oski şi colab., 1963). Scăderea lor prin terapia cortizonică sau splenectomie este un indiciu de eficienţă terapeutică.

Recent s-au publicat cîteva noi teste a căror valoare specifică urmează să fie verificată pentru diagnosticul P.T.I. De importanţă deosebită pare să fie testul descris de Karpatkin şi colab. (1972) care pune în evidenţă efectul trombocitolitic al Ac din ser prin eliminarea factorului III trombocitar. Verificat pe 234 de cazuri cu P.T.I. sau secundară în L.E.D., testul este frecvent la aproape 80% din cazuri apropiindu-se de rezultatele iniţiale ale lui Harrington. Apare pozitiv şi în purpurele prin izoimunizare precum şi în unele cazuri secundare sensibilizării la droguri sau la alte substanţe.

Purpure trombopenice prin izoimunizare s-au precizat mai bine în ultimul timp în urma punerii la punct a metodelor de tipare a grupelor de trombocite (Dausset şi colab., 1965, 1971; Van Rood, 1966). Studiul P.T. apărute la nou-născut prin incombatibilitate între mamă şi făt, precum şi în cele după transfuzii repetate în aplazia medulară sau leucemii au constituit

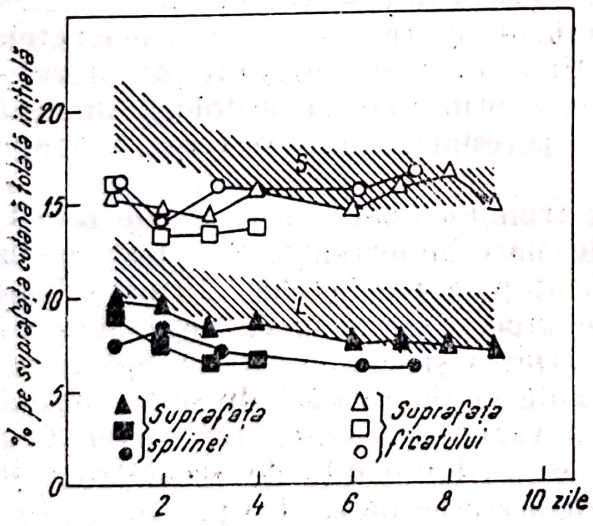


Fig. 30. — Schema repartizării trombocitelor marcate cu sechestrarea lor splenohepatică (după Shulman, 1965).

Tabelul nr. 36

Tipurile de antigene monotisulare din leucocite şi trombocite (după Dausset, 1971)

Antigene		Tehnica
Plachete	DUZZO	—
	$Zw^a(Pl^{A1})$	Cons. Antigl.
	$Zw^b(Pl^{A2})$	Agl., R.F.C.
	Ko^a	Agl.
	Ko^b	Agl.
	Pl^{E1}	Agl.
	Pl^{E2}	R.F.C.′
		R.F.C.′
Limfocite	Ly^{D1}	R.F.C′.
	NAI	Agl.
	NBI	Agl.
	9^a	Agl.
	Vaz	Agl.

o verificare a cunoştinţelor actuale asupra structurii Ag aloimunizante la om. Se disting în prezent Ag plachetare *politisulare* echivalente cu Ag alotipice de transplantare, ca cele din grupul HLA, şi *Ag monotisulare* specifice structurii trombocitului (tabelul nr. 36). Ag Duzzo apare izolat şi a fost găsit într-un caz de incompatibilitate antigenică între făt şi mamă

după sarcini repetate. Celelalte Ag sînt repartizate în 3 grupe ZW, KO şi P1 (Shulman şi colab., 1965). Statistici recente arată că 98% din populaţie sînt de grup HLA-1 în cadrul grupelor politisulare.

Trombocitopeniile posttransfuzionale se însoţesc în general de leucopenii. De cele mai multe ori reacţiile imediate posttransfuzionale sînt mai ales prin Ac antileucocitari care se produc mai frecvent decît cei antitrombocitari. Trombocitopeniile de izoimunizare posttransfuzională ridică problema alegerii donatorilor pe bază de compatibilitate pentru cazurile care necesită transfuzii terapeutice de plachete. Există acum numeroase sisteme de testare a compatibilităţii cu selecţia donorilor prin analize statistice a Ag din grupul HL—A pluritisular şi a Ag monospecifice celulare (Yankee, 1969; Dausset, 1971). Transfuziile făcute cu plachete necompatibile pot să fie utile numai la început la persoane netransfuzate, mai tîrziu fiind inutile şi chiar primejdioase putînd da şocuri trombocitopenizante grave.

Din punct de vedere al diagnosticului serologic, pe lîngă testele de aglutinare şi de fixare a C′ care dau rezultate concludente, alte teste folosite ca inhibiţia retracţiei chiagului şi testul de consumpţie al antigammaglobulinei dau reacţii nesigure, Shulman crede că în purpurele trombopenice izoimune există cel puţin un test pozitiv.

Cercetările *in vivo* atestă de asemenea prezenţa de Ac obţinîndu-se rezultate tot aşa de tipice ca şi în P.T.I. Din aceste date se conchide că izo-Ac din P.T. izoimună sînt Ac compleţi, ca cei fixatori de C′ sau aglutinanţi; există însă şi Ac incompleţi, care pot să sensibilizeze trombocitele injectate şi prin aceasta să determine sechestrarea lor în splină şi ficat. Amintim că Shulman consideră că trombocitopenia izoimună se produce nu prin efectul direct al izo-Ac, ci prin acţiunea complexelor dintre plachetele transfuzate şi Ac. Trombocitele proprii ale primitorului scad ca efect al complexelor Ac-trombocite izogrup asupra trombocitelor proprii care intră în aceste reacţii imune ca „spectator inocent". Mecanismul este ca cel susţinut de acest autor în trombocitopenia prin sensibilizare la droguri.

Indiferent de mecanismul intim al trombocitopeniei (liză directă periferică, complexe aglutinante trombocitare, clearance prin sechestrare splenică), efectul terapeutic bun prin corticoterapie şi splenectomie sînt argumente în plus pentru natura imunologică atît în P.T.I, cît şi în P.T. izoimună.

Purpurele trombopenice prin sensibilizare la droguri, cunoscute de mult timp ca sindroame hemoragice acute şi trecătoare în urma administrării de droguri, au fost precizate din punct de vedere imunologic de către Ackroyd (1954). Între drogurile sensibilizante sînt chinina, chinidina, barbituricele şi alte sedative, sulfamidele, digitoxina, unii derivaţi de metale grele, iodurile etc. (Harrington, 1956).

În funcţie de reactivitatea fiecărui individ, manifestările se instalează după doze repetate sau foarte curînd după doze minime. O trombocitoliză acută poate fi declanşată de o nouă administrare de medicament sau poate să apară la 5—6 zile după prima administrare. Perioada de incubaţie este asemănătoare celei din boala serului şi constituie perioada în care se formează Ac.

Scanned with OKEN Scanner

S-a demonstrat de către Ackroyd că sensibilizarea prin droguri (sedormid, chinidină) se produce faţă de complexele drog-trombocite. În această combinaţie, drogul joacă un rol de haptenă, determinînd producerea de Ac-aglutinanţi pentru trombocitele cuplate cu drogul respectiv. *In vitro*, aglutininele din serul bolnavului se pun în evidenţă prin reacţia de aglutinare a trombocitelor normale după o incubaţie prealabilă cu drogul sensibilizant (Ackroyd, 1954; Harrington, 1956). *In vivo*, plasma de bolnav transfuzată la normal produce trombocitopenie marcată şi purpură după ce primitorul a luat în prealabil şi o anumită doză din drogul sensibilizant (Shulman, 1965).

Ca în orice stare de sensibilizare se poate ca, după mai multe pusee de trombocitopenie prin drog, să se instaleze o purpură trombocitară autoimună dobîndită. Transformarea este un model de boală autoimună prin pierderea toleranţei faţă de selful modificat de haptene (Milgrom, 1965). Ca şi în sensibilizările din A.H.A.I., plasma singură transfuzată la voluntari nu produce trombocitopenie. Dacă însă se adaugă drogul sensibilizant apare trombocitopenie severă. Teoria complexelor imune cu fixare de C′ pe plachete pare verificată prin mai multe probe. Ele încetează să se mai producă după suspendarea drogului şi eliminarea lui din circulaţie. Trombocitopenia revine la normal pe măsura regenerării prin megacariocite, în genere în 7—10 zile, dacă nu se mai formează complexul Ac-drog.

Formele secundare de trombocitopenii autoimune apar în stări complexe de dereglare imună care au fost amintite mai ales la capitolul de disgammaglobulinemii şi A.H.A.I. Pot să apară Ac anti-trombocitari concomitent cu Ac anti-eritrocitari compleţi sau incompleţi ca în sindromul Evans. Acestea pot să apară cu caracter primitiv, uneori în forme grave mortale, prin asociere de A.H. paroxistică, hemoragii viscerale, simptome de insuficienţă renală acută. Poate să apară însă în cadrul evoluţiei spre o boală de colagen ca L.E.D.

Din punct de vedere practic, trombocitopenia autoimună secundară poate agrava evoluţia unei colagenoze sau a unei limforeticuloze maligne. Terapia complexă imunosupresivă cu cortizon şi citostatice de cele mai multe ori influenţează în bine evoluţia. Uneori este necesară splenectomia de necesitate, care schimbă complet evoluţia unui limfom sau limfadenoze cronice. Experienţa personală ne-a arătat efectul bun al splenectomiei în trombocitopeniile din limfoamele maligne (Berceanu şi colab., 1973).

C. LEUCOPENII DE NATURĂ IMUNĂ

Mecanismele imune au fost implicate în patogenia neutropeniilor în acelaşi timp cu a trombocitopeniilor, sub influenţa lui Ackroyd, dar mai ales a lui Dausset, care au introdus tehnicile de leucoaglutinare. Contribuţiile recente asupra structurii antigenice a leucocitelor deschid noi linii de investigaţie asupra posibilităţii de producere a leucopeniilor autoimune alături de cele izoimune. Ca şi trombocitele, leucocitele neutrofile posedă Ag monotisulare (tabelul nr. 35) şi Ag pluritisulare în cadrul sistemului general de histocompatibilitate la om HL—A. Noile contribuţii privind

Scanned with OKEN Scanner

cele 4 tipuri de Ag monotisulare leucocitare au dus la precizarea multor cazuri de *leucopenii izoimune* la nou-născuţi prin incompatibilitate între mamă şi făt şi de leucopenii posttransfuzionale fără a influenţa mult problema leucopeniilor autoimune primitive la adulţi.

În clasificarea neutropeniilor propusă recent de Finch (1972) autorul separă 5 grupe mari care se subîmpart în altele delimitîndu-se 11 tipuri unele de origine periferică şi altele de origine centrală, prin insuficienţă mielopoetică. Leucopeniile de natură imună sînt incluse de autor în grupul III determinate de mecanisme variate care fac să scadă masa de granulocite din sîngele circulant.

Ţinînd seama de variatele posibilităţi patogenice se pot recunoaşte următoarele tipuri de neutropenii în care mecanismul imun este mai mult sau mai puţin dovedit :

1) prin izoimunizare la nou-născuţi şi posttransfuzionale,

2) primitive presupuse de natură autoimună prin efectul autoglutininelor sau al auto-Ac citotoxici,

3) secundare care apar în cadrul altor boli autoimune ca L.E.D., precum şi în unele boli de deficit imun,

4) prin hipersensibilizare la droguri, bine dovedite şi bine studiate,

5) prin hipersplenism, consecinţă a sechestrării în splină şi probabil al auto-Ac splenici.

1. *Neutropeniile prin izoimunizare* apar frecvent însă nu determină decît un rar deficit de apărare, cu infecţii grave, prin scăderea fagocitozei. Se citează însă cazuri foarte severe, cu scădere de leucocite, prin efect leucoaglutinant intravascular, cu reacţii febrile şi fenomene generale, cînd leucocitele scad sub 10^4/ml, iar la 24 de ore chiar la $2-3\times10^3$/ml. Ac sînt aglutinine de tip IgG (7 S) ce traversează placenta, avînd specificitate pentru Ag monotisulare. Sînt active faţă de granulocitele nounăscutului şi ale tatălui. S-au găsit însă destul de frecvent şi Ac în cadrul sistemului pluritisular HL—A, însă acestea nu dau leucopenii. Ac leucopenizanţi monotisulari persistă 6—12 săptămîni însă neutropenia se remite în general mai curînd. Există multe cazuri în care deşi titrul lor este crescut dau neutropenie uşoară, tranzitorie, asimptomatică (Halversen, 1965). La multipare ar exista obişnuit Ac leucoaglutinanţi însă fără efect la copii. Se presupune de asemenea că unele neutropenii la copii cu infecţii variate să fie secundare toxicităţii acestora şi nu invers.

O grupă de neutropenii neonatale este determinată nu de izoimunizare prin incompatibilitate între mamă şi făt, ci prin trecerea transplacentară de factori neutropenizanţi care există la o mamă leucopenică. Astfel pot să apară leucopenii mai mult sau mai puţin trecătoare la copiii născuţi dintr-o mamă cu L.E.D. prin aglutinine antileucocitare (Seip, 1960).

Neutropeniile prin transfuzii repetate de sînge apar ca reacţii trecătoare destul de frecvent. După Dausset (1971), 60 % din reacţiile febrile care apar imediat după transfuzii de sînge total sînt prin leuco-Ac, mai puţin prin Ac antitrombocitari sau în cadrul subgrupelor eritrocitare. Durează în general 1—2 ore şi nu pot fi înlăturate decît dacă se foloseşte pentru transfuzii sînge aleucocitar sau cu cel mult 1/8 din masa totală de leucocite.

2. *Neutropeniile autoimune idiopatice* ca boli primitive sau determinate de un factor infecţios viral sau toxic comparabile patogenic cu A.H.A.I.,

nu s-au dovedit ca atare cu toate cercetările întreprinse după 1950 (Dausset, 1965; Finch, 1972). Toate metodele încercate nu se pot reproduce cu aceleaşi rezultate şi de aceea nu au devenit metode practice, nici testul de leucoaglutinare al lui Dausset cu modificarea recentă (1965) şi nici metoda precipitinelor sau de R.F.C. modificată de Tullis (1962). De asemenea, unele reacţii indirecte bazate pe acţiunea serurilor presupuse autoimune de a produce inhibiţia capacităţii de fagocitare şi de mobilitate a granulocitelor, sau metode cu eliberare de enzime intraleucocitare, sau scăderea capacităţii de incorporare a metabolitelor radioactive de ADN şi ARN (Harrington, 1956) nu s-au impus ca metode curente şi nu au adus contribuţii noi în patogenia leucoaglutininelor.

3. *Neutropeniile autoimune secundare* apar în cadrul altor boli autoimune sau în cadrul unor stări de deficit imun de natură variată şi pot să fie considerate ca autoimune. La 50% din L.E.D. există neutropenii mai accentuate şi ele pot fi considerate autoimune cînd se găsesc concomitent şi Ac antileucocitari. De multe ori însă se pot explica prin splenomegalie şi sechestrare.

În limfoamele maligne, ca L.R.S., timoame şi mai rar în boala Hodgkin, leucopeniile pot fi determinate în cadrul dereglărilor imune cu producere de auto-Ac complecşi, prin metaplazia malignă. În leucopeniile unde apar frecvent auto-Ac se incriminâ o patogenie variată unde poate interveni un fenomen de izoimunizare prin apariţia sau „demascarea" unor Ag structurale faţă de care există toleranţă slabă. Astfel sînt leucopeniile în stări de deficit imun cu disglobulinemii şi alte fenomene autoimune. Pot apărea perioade tipice de neutropenie cu auto—Ac de tip IgM care evoluează spre o boală autoimună ca bolile de colagen (Lonsdale, 1967).

În sindroamele de deficit imun timic leucopeniile se asociază la limfopenii contribuind la severitatea evoluţiei (Gitlin şi colab., 1964). O formă particulară rar semnalată este disgenezia reticulară descrisă de De Vaal şi Seynhaene (1959), cu deficit imun global şi agranulocitoză.

4. *Neutropeniile prin hipersensibilizare la droguri* sînt cele mai binecunoscute. Explicaţia lor patogenică şi evoluţia sînt asemănătoare cu a trombocitopeniilor de sensibilizare. Se acceptă aceaşi patogenie dublă după ipoteza lui Ackroyd a haptenelor, sau a complexelor imune după Shulman. De remarcat că faţă de folosirea enormă a drogurilor incidenţa izoimunizării cu leucopenii este numai de maximum 1% (Finch, 1972).

Manifestările clinice apar în general după 7—10 zile, cu fenomene anafilactice trecătoare, erupţii urticariene, febră, hipotensiune. La cei sensibilizaţi, neutropenia poate fi variată, ajungîndu-se pînă la dispariţia neutrofilelor. Apar forme grave de agranulocitoză şi ulceraţii orofaringiene, gingivale, febră, infecţii septicopiohemice. Măduva osoasă la început este hiperplazică devenind hipo- sau chiar aplazică mai tîrziu.

Aplazia medulară poate să însoţească frecvent agranulocitoza prin mecanism periferic; în acest caz revenirea este mai tardivă, iar evoluţia poate fi gravă şi chiar mortală. Sindromul de aplazie medulară prin hipersensibilizare la droguri este binecunoscut în hematologie şi descris clasic de Rohr şi Heilmeyer. Este discutabilă granulopenia cu măduvă hiperplazică care poate să fie prin blocaj medular alergo-anafilactic sau compensator distrugerilor granulocitare periferice. Absenţa formelor mature se

explică prin descărcarea lor rapidă, consecinţă a unui feedback periferic. Aplazia medulară se explică prin efectul sensibilizant pe întreaga serie mieloică avînd în vedere o structură antigenică apropiată pentru elementele în maturaţie. Sînt prezervate numai elementele foarte tinere mieloice care ar avea o structură antigenică mai săracă (Garb, 1962 ; Berceanu şi colab., 1964).

Granulopeniile prin droguri, chiar cele mai grave, însoţite sau nu de afectarea măduvei osoase, sînt reversibile dacă se încetează administrarea la timp a drogului. Ca şi în celelalte hemocitopenii de sensibilizare, serul bolnavilor conţine mai mult timp Ac anti-drog ; un efect granulopenizant se poate produce prin transfer de ser la om sau la animal numai dacă se adaugă şi drogul sensibilizant.

Detectarea Ac specifici şi a complexelor imune se face prin reacţii de precipitare faţă de drog sau prin reacţii de leucoaglutinare după incubarea prealabilă a leucocitelor cu drogul sensibilizant. Diagnosticul este posibil şi prin alte tehnici ca cea propusă de Tullis (1962) cu aglutinarea leucocitelor după o prealabilă iradiere sau testul propus de Dausset (1965) care este o adaptare a testului de consumpţie de anti-gammaglobulină în reacţia Ac specifici faţă de Ag ribosomale şi citoplasmice leucocitare. Toate acestea sînt pozitive, însă numai după incubarea leucocitelor cu drogul sensibilizant.

5. *Neutropeniile prin sechestrare splenică* demonstrate după o bogată experienţă de către autorii americani (Doan şi colab., 1960) apar în forme de splenomegalii primare, dar mai ales în forme de splenomegalii secundare. Astfel sînt neutropeniile din ciroze şi hepatite hipersplenomegalice din aşa-zisul sindrom Banti care este o hepatită cu evoluţie lentă sau un sindrom de splină congestivă. S-a semnalat ca o condiţie specială de sechestrare posibilitatea unor tulburări circulatorii intrasplenice (Teodorescu şi colab., 1960).

Splenomegaliile din bolile de colagen ca L.E.D., sindromul Felty pot să condiţioneze foarte frecvent granulopenii prin sechestrare şi foarte probabil prin leucoaglutinine. Se dovedeşte o durată scăzută de viaţă a granulocitelor cu turnover crescut şi cu sechestrare în splină care se pune în evidenţă prin marcarea leucocitelor cu ^{51}Cr sau PF^{32} P (McMillan şi Scott, 1968 ; Bishop, 1970).

Avînd în vedere că o mare parte din granulocite în condiţii variate de granulopenie sînt sechestrate în plămîn, sechestrarea predominantă în splină în hipersplenismul primar sau secundar se va cerceta neapărat pentru indicaţii de splenectomie.

Granulopeniile din unele limfoame maligne, dacă nu sînt prin invazie medulară şi după terapie leucopenizantă, pot să fie de asemenea prin sechestrare splenică ca în boala Hodgkin cînd splenectomia poate să dea rezultate bune.

Tratamentul granulopeniilor imunologice se va indica după gravitatea şi tipul patogenic. Cînd se dovedeşte o sechestrare splenică, indiferent dacă este vorba de un hipersplenism secundar sau primar se indică splenectomia (Berceanu şi colab., 1973). În formele izoimune la nou-născutul în cazuri grave se poate face exsanguinotransfuzia concomitent cu corticoterapia. În formele posttransfuzionale, ca şi în cele prin sensibilizare la droguri se poate face o terapie patogenică, eliminînd leucocitele din sîngele

transfuzat şi drogul din terapie; dacă mai există o gravitate deosebită se administrează cortizon pînă la refacerea măduvei osoase. În formele secundare altor dereglări imune remisiunile sînt posibile prin tratamentul bolii de bază.

BIBLIOGRAFIE

Ackroyd J. F., Le Sang, 1954, **11**, 28.
Ackroyd J. F., Proc. Roy. Soc. Med., 1962, *55*, 30.
Aster R. H., Jandl J. H., J. Clin. Invest., 1964, *43*, 856.
Aster R. H., în *Hematology*, sub red. Williams W. J. W., Beutler E., Erslev J., Rundles R. W., Mc. Graw-Hill, Book Company and Blakiston Publ., 1972, p. 1 124.
Berceanu Şt., Săsărman M., Med. Int., 1957, *6*.
Berceanu Şt., Stoichiţă M., Teican-Gheorghiu M., Iamandi I., *Al X-lea Congres Internaţional de transfuzii sanguine*, Stockholm, 1964.
Berceanu Şt., *Imunologie şi Imunopatologie*, sub red. Mesrobeanu I., Berceanu Şt., Edit. medicală, Bucureşti, 1968.
Berceanu Şt., Geib R., Gociu M., St. cerc. med. int., 1969, *10*, 197.
Berceanu Şt., Purice S., Gociu M., Sighetea E., *Simpozionul Naţional de fiziopatologia splinei*, Cluj, 10—12 mai 1973; Clujul Medical, 1973, XLVI, *315* (rezumat).
Berceanu Şt., Gociu M., *Simpozionul Naţional de fiziopatologia splinei*, Cluj, 10—12 mai 1973; Clujul Medical, 1973, XLVI, 388.
Bishop C. R., Athens J. W., Clin. Res., 1970, *18*, 175.
Burnet M. F., *The clonal selection theory of acquied immunity*, The Araham Flexner Lectures of Vanderbilt Univ. Cambridge, 1958.
Choi S. I., McClure P. D., Canad. Med. Ass. J., 1967, *97*, 562.
Cohen P., Gardner F. H., Barnett G. O., New Eng. J. Med., 1961, *264*, 1 294.
Coombs R. R. A., Mourand A. E., Race R. R., Brit. J. Exp. Path., 1945, *26*, 255.
Coombs R. R. S., Gell P. S. H., în *Clinical aspects of immunology*, Blackwell Scientific Publ., Oxford and Edinburgh, 1968, p. 575.
Cooper A. G., Clin. Exp. Immun., 1968, *3*, 691.
Dacie J. V., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 415.
Dacie J. V., Worlledge Sh. M., în *Clinical aspects of immunology*, sub red. Gell P. G. H., Coombs R. R. A., ed. a 2-a, Blackwell Scient. Publ., Oxford and Edinburgh, 1968, p. 804.
Dacie J. V., Worlledge Sh. M., în *Progess in Hematology*, 6, sub red. Brown E. B., Moore C. V., New York, Grune and Stratton, 1969, p. 82.
Dameshek W., Schwartz S. O., Medicine, 1940, *19*, 231.
Dameshek W., Gunz F., Leukemia, ed. a 2-a, Grune and Stratton, New York, 1964.
Dausset G., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 550.
Dausset J., Colombani J., în *Traite d'Immunologie*, Flammarion, Paris, 1971, p. 58.
De Vaal O. M., Seynhaene V., Lancet, 1959, *2*, 1 123.
Devey M. G., Lander H., Brit. J. Haemat., 1964, *10*, 94.
Doan C. A., Bouroncle B. A., Wiseman B. K., Ann. Intern. Med., 1960, *53*, 861.
Donath J., Landsteiner K., München Med. Wschr., 1904, *51*, 1 590.
Evans R. S., Turner E., Bingham M., Amer. J. Med., 1965, *38*, 378.
Evans R. S., Turner E., Bingham M., J. Clin. Invest., 1967, *46*, 1 461.
Eyster M. E., Jenkins D. E., J. Immunol., 1970, *105*, 221.
Feltkamp T. E. W., Engelfriet C. P., Van Lochem J. J., Lancet, 1968, *1*, 644.
Finch S. C., în *Hematology*, sub red. Williams W. J., Bentler E., Ersley A. J., Mc.Graw-Hill Book Company and Blakiston Publ., 1972, p. 628.
Garb S. A., J. Immunol., 1962, *88*, 142.
Gardner F. H., în *Immunological Diseases*, ed. a 2-a, sub red. Samter M., Little, Brown and Company, Boston, 1971, p. 1 111.
Gheorghiu M., Gociu M., Sighetea E., Purice S., Berceanu Şt., Rev. Roum. Méd. Int., 1973, **10**, *4*, 289.
Gitlim, D., Vawter G., Craig J. M., Pediatris, 1964, *33*, 184.
Götze O., Müller-Eberhard H. J., J. Exp. Med., 1971, **134**, *2*, 90.
Gralnick N. R., Wright L. D., McGinnis M. H., J. A. M. A., 1967, *199*, 725.

GREENBERG M. S., ZANGER B., WONG H., Blood, 1967, *30*, 891.
HALVIRSEN K., Acta paed. scand., 1965, *54*, 86.
HARRINGTON W. J., MINNICH V., ARIMURA G., în *Progress in Hematology*, 1, Grune and Stratton, New York, 1956.
HARRIS J. W., J. Lab. Clin. Med., 1956, *47*, 760.
JONDL J. H., SIMMENS R. L., CASTLE N. B., Blood, 1961, *28*, 133.
KARPATKIN S., STRICK N., KARPATKIN M., SISKIND G. W., Ann. J. Med., 1972, *52*, 776.
LEDDY J. P., PETERSON P., YEAW M. A., BAKEMEIER R. F., J. Immunol., 1970, *105*, 677.
LEDDY J. P., SWISHER S. N., în *Immunological Diseases*, ed. a 2-a, sub red. SAMTER M., Little Brown and Company, Boston, 1971, 1083.
LEVINE B., REDMOND A., J. Clin. Invest., 1967, *46*, 1 085.
LONSDALE D., DEODHAR S. D., MERCER R. D., J. Pediat., 1967, *71*, 790.
MCMILLAN R., SCOTT J. L., Blood, 1968, *32*, 738.
MILGROM F., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 118.
MITCHISON N. A., Immunology, 1968, *15*, 509.
MOULINIER J., SERVANTIE B., Vox Sang, 1964, *9*, 103.
MÜLLER-EBERHARD H. J., FUNDERBERG H., HARBOE M., MOLLISON P. L., J. Clin. Invest., 1963, *42*, 958.
NAJEAN J., ARDAILLOV N., CAEN J., LARRIEV M. J., BERNARD J., Blood, 1963, *22*, 718.
OSKI F. A., NAIMAN J. L., DIAMOND L. K., New Engl. J. Med., 1963, 268, 1 423.
PIROFSKY B., Ann. Int. Med., 1968, *68*, 109—121.
PIROFSKY B., *Hemolythic anemia*, The Williams and Wilkins Company Baltimore, 1969.
ROSSE W. F., DOURMASHKIN R., HUMPHREY J. H., J. Exp. Med., 1966, *123*, 969.
SCHUBOTHE H., în Bayer Simposium I, *Current Problems in Immunology*, sub red. WESTPHAL O., BOCK H. O., GRUNDMANN E., Springer Verlag, New York, 1969, p. 167.
SCOTT G. L., MYLES A. B., BACON P. A., Brit. Med. J., 1968, *3*, 543.
SEIP M., Arch. Dis. Child., 1960, *35*, 364.
SHULMAN N. R., în *Immunopathology*, sub red. GRABAR P., MIESCHER P. A., IIInd Int. Symp., Basel, Schwabe, 1963, p. 388.
SHULMAN N. R., MARDER V. J., VEINROCH R. S., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 499.
SHULMAN N. R., New Eng. J. Med., 1972, *287*, 408.
STEKANINI M., DAMESHEK W., *The hemorrhagic disorders*, ed. a 2-a, Grune and Stratton, New York, 1962, p. 189.
TEITEL P., Nouv. Rev. Franc. Hémat., 1967, *7*, 195.
TEODORESCU P., BERCEANU ŞT., SĂSĂRMAN M., HERGOT L., Med. Int., 1960, *8*.
TULLIS J. L., J. A. M. A., 1962, *180*, 958.
VAN LOGHEM J. J., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 465.
VAN ROOD J. J., Vox Sang, 1966, *11*, 276.
WEED R. I., în *Proceeding XII Congress International Society Hematologie*, New York, sub red. JAFFE E. R., 1968, p. 81.
WEIGLE O. W., în *Immunopathology*, IIInd Int. Symp., Schwabe a. Co. Publishers, Bassel-Stuttgart, 1963, 167,
WEINER W., VOS G. H., Blood, 1963, *22*, 606.
WHITE J. M., BROWN D. L., HEPNER G. W., WORLLEDGE S. M., Brit. Med. J., 1968, *3*, 26.
WIENER A. S., GORDON E. B., GALLOP C., J. Immun., 1953, *71*, 58.
WIENER A. S., UNGER L. J., COHEN L., FELDMAN J., Ann. Intern. Med., 1956, *44*, 221.
WILLIAMS W. J., în *Hematology*, sub red. WILLIAMS W. J., BENTLER E., ERSLEV A. J., RUNDLES R. W., Mc.Graw-Hill Book Company and Blakiston Publ., 1972, p. 1 120.
WITEBSKY E., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 462.
WOLLHEIM F. A., WILLIAMS R. C., N. Engl. J. Med., 1966, *274*, 61.
WORLLEDGE M. S., în *Autoimunity, Simposium of the 5th Congress of the International Academy Pathology*, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1965, p. 52.
WORLLEDGE S. M., CARSTAIRS K. C., DACIE J. V., Lancet, 1966, *2*, 133.
YANKEE R. A., GRUMET F. C., ROGENTINE G. N., New Engl. J. Med., 1969, *281*, 1 208.
YOKOHAMA M., EITHD T., BOWMAN M., Vox Sang, 1967, *12*, 138.
ZUELZER W. W., MASTRANGELO R., STULBERG C. S., PAVLIK M. D., PAGE R. I., THOMPSON R. I., Ann. J. Med., 1970, *49*, 80.

Scanned with OKEN Scanner

18. IMPLICAȚII IMUNE ÎN ALTE BOLI

A. ELEMENTE DE IMUNOPATOLOGIE A TRACTULUI ALIMENTAR

A. PAPPO

Ca şi organele limfoide propriu-zise, corionul mucoasei digestive este foarte bogat în Ig eliberate de plasmocite (400 000/mm³). IgA, IgE şi IgM au fost găsite şi în porţiunea apicală a enterocitelor. Spre deosebire de celelalte organe limfoide şi de serul sanguin, în peretele intestinal nu predomină IgG, ci IgA. Raportul IgA : IgM : IgG ar fi aici 20 :3 :1. Densitatea celulelor cu IgM şi IgD este aproximativ aceeaşi ca în alte sectoare ale sistemului limforeticular. Pentru IgE, mucoasa intestinală constituie unul din sediile importante (mai ales cea rectală, unde IgE egalează IgM) (Kraft şi Kirsner).

În sucul enteric, raportul IgG :IgA este, prin creşterea numitorului, mai mic decît în alte secreţii externe şi mai ales decît în serul sanguin. După Dive şi Heremans, serul conţine 18 mg, iar sucul jejunal 146 mg IgA la 100 ml. IgA din sucul enteric este un dimer al celei din ser, avînd astfel greutatea moleculară şi constanta de sedimentare mai mari (cap. 4). Unirea monomerilor de IgA se face de către aşa-zisa „piesă secretorie" elaborată de enterocit. În felul acesta, IgA nu se mai degradează în mediul acid sau sub acţiunea tripsinei (Jones). IgG se găseşte sub aceeaşi formă ca în ser, rezistentă la proteinaze. „Piesa secretorie" preexistă formării IgA, iar în deficienţa selectivă a IgA se ataşează de IgM sau chiar de IgG.

Autonomia funcţională. În culturi de ţesuturi, mucoasa digestivă încorporează aminoacizi marcaţi în imunoglobuline. Plasmocitele cu IgA nu apar în tractul alimentar al copilului decît la o lună după naştere, pe măsură ce se constituie microflora locală. Ele ating nivelul adultului la şase luni, dar se împuţinează după administrarea prelungită de antibiotice. Sărăcia în celule imunocompetente a mucoasei colecistului ar putea fi corelată cu relativa sa sterilitate.

Şobolanii hrăniţi cu feritină, albumină sau hematii heterologe produc foarte numeroşi anticorpi specifici de clasă IgA în corionul digestiv şi foarte rari anticorpi de clasă IgM (apoi IgG) în limfoganglioni sau splină. Răspunsul este cantitativ inversat dacă antigenii sînt introduşi parenteral (Sherman).

Chiar dacă vaccinările perorale produc şi anticorpi serici, apariţia lor este mai tardivă, iar concentraţia mai mică decît a celor mucoşi digestivi. Faţă de unele infecţii (poliomielită, holeră etc.), vaccinarea orală conferă o imunitate mai puternică. Uneori, vaccinarea pe gură nu este eficace, dacă microbul sau virusul este omorît. Memoria imună a tractului alimentar este mai mică şi necesită revaccinări mai dese. În anumite boli, coproanticorpii corelează cu evoluţia clinică mai bine decît cei serici.

Scanned with OKEN Scanner

Vaccinarea parenterală nu produce de obicei anticorpi locali digestivi. După injecţii i.v. de IgA mono şi dimeră marcată cu izotopi, plasmocitele cu IgA din peretele intestinal nu au manifestat radioactivitate.

Integrarea funcţională. Din timidina radioactivă cu care au fost marcate limfocitele circulante, o parte — extrem de mică — a fost regăsită în imunocitele tractului alimentar. După imunizare pasivă parenterală apar foarte sporadic anticorpi în exosecreţia gastrointestinală. IgA serică, monomeră, este prezentă — în cantităţi mici însă — în sucurile digestive şi aceasta probabil prin transfer pasiv. Dealtfel, tractul alimentar constituie unul din locurile normale de catabolism ale globulinelor serice.

Influenţa inversă, a sistemului imunitar digestiv asupra celui sistemic, este mai evidentă. La animalele crescute steril, nu numai mucoasa digestivă este lipsită de celule imunocompetente, ci întregul sistem reticuloendotelial este ceva mai slab dezvoltat. La aceste animale, nivelul gammaglobulinelor serice, mai ales al IgA, este scăzut. Pe de altă parte, bolnavii de hipogammaglobulinemie, şi în primul rînd cei de hipogamma-A-globulinemie, au o densitate mică de plasmocite cu Ig şi îndeosebi cu IgA. „Piesa secretorie" fiind elaborată exclusiv de mucoasa digestivă, cantitatea minimă de IgA dimeră din serul uman normal provine desigur din această mucoasă. Durata de viaţă a IgA dimere fiind scurtă, aportul din canalul alimentar trebuie considerat ca important. Segmente izolate de intestin sintetizează IgA, care apare în exosecreţia mucoasei şi, într-o cantitate foarte mică, în lichidul eferent de perfuzie. La cîine, limfa eferentă a intestinului este mai bogată în IgA decît serul.

În ceea ce priveşte plăcile lui Peyer ale mamiferelor, s-a emis ipoteza că ar fi echivalente bursei Fabricius a păsărilor. Aceste plăci sînt normal dezvoltate la animalele ţinute steril, nu răspund la imunizare orală, iar extirparea lor duce la depresiune imunitară sistemică.

Proprietăţi funcţionale. După infecţiile şi vaccinările cu bacil tific şi dizenteric, vibrion holeric, poliovirus etc., în exosecreţiile digestive şi în fecale apar anticorpi specifici. Dacă vaccinările sînt orale, anticorpii aparţin îndeosebi clasei IgA. În lumenul digestiv găsim şi anticorpi faţă de germenii comensuali. Ei au fost numiţi anticorpi „naturali".

Izohemaglutininele din sucul enteric şi chiar cele din serul sanguin şi-ar datora existenţa unei reacţii încrucişate la alimente sau microbi intestinali, avînd structură antigenică asemănătoare cu a substanţelor de grup sanguin uman. Se presupune că în sucul enteric se află anticorpi antiparaziţi. Au fost semnalaţi anticorpi „mucoşi" la proteine alimentare nu numai în alergoze, ci şi la indivizi clinic normali.

Acţiunea bactericidă a anticorpilor mucoasei digestive nu a fost clar demonstrată. Posibilitatea IgA de a fixa complementul, fie numai şi în prezenţa lizozimului, este în general contestată. În schimb, acţiunea aglutinantă ar fi mai puternică decît în ser. Datorită ei, tulpinile virulente sînt probabil împiedicate să adere de mucoasă şi pot fi îndepărtate prin mişcări peristaltice. Este îndoielnică acţiunea opsonizantă, care ar implica atragerea de fagocite din peretele intestinal. Acţiunea antitoxică s-a confirmat pentru bacilul difteric, vibrionul holeric, dar nu pentru colibacil. IgE ar putea sensibiliza mastocitele intestinale care ar elibera astfel substanţe vasomotorii, favorizînd intrarea anticorpilor în lumenul digestiv. Tot clasei IgE ar aparţine reaginele şi eventualii anticorpi contra protozoa-

Scanned with OKEN Scanner

relor. Acțiunea de anticorp blocant a IgA ar viza în special microflora saprofită și proteinele alimentare, care astfel „învelite" n-ar mai stimula antigenic formarea anticorpilor de clasă IgG și IgM. Lipsei fiziologice de IgA și absorbției mai mari de proteine la noii-născuți le-a fost atribuită iuțeala cu care aceștia „fabrică" anticorpi serici IgG și IgM față de albumina bovină ingerată.

Imunizarea pasivă digestivă este fiziologic necesară copilului mic din trei motive : 1) sistemul imunitar local nu apare decît după colonizarea microbiană a intestinului ; 2) secreția clorhidro-peptică este și ea deficitară în primele săptămîni de viață ; 3) absorbția de proteine este importantă la această vîrstă. Bogăția de IgA a secreției lactate este deci explicabilă. Frecvența infecțiilor intestinale și a alergiei alimentare crește la copiii înțărcați precoce.

Unii anticorpi serici ai sugarilor, inexistenți la naștere, provin din laptele matern. Pentru cei de clasă IgG prezervarea în stomacul încă anacid și absorbția în jejunul proximal au fost demonstrate în primele trei săptămîni de viață. Septicemiile ar fi de aceea mai frecvente la copiii nealăptați natural.

Trecerea unor germeni din lumenul digestiv în mediul intern, la copilul mic, creează premise de eficacitate respectivelor vaccinări perorale.

1) ENTEROPATIA CARENȚELOR IMUNITARE

Cadrul nosologic. În anumite hemopatii maligne și în pierderi urinare sau gastro-intestinale de proteine se pot produce carențe imunitare, al căror eventual răsunet digestiv nu are o importanță practică deosebită. În carențele imunitare primare însă, diareea și malabsorbția ocupă uneori un loc foarte important în tabloul clinic și pot fi revelatorii pentru însăși existența acestor carențe.

Exceptînd agammaglobulinemia limfocitoftiziei, carențele imunitare prin hipoplazie de timus se însoțesc rar de tulburări intestinale.

În schimb, o diaree tenace ar fi prezentă în 15—50% din cazurile de hipogammaglobulinemie totală sau disociată, afectînd imunitatea umorală și fiind de aceea numită bursodependentă (Cattan). Adesea debutul este tardiv, la vîrsta adultă, și precedat de infecții ale căilor respiratorii. Malabsorbția poate duce la steatoree sau la anemie megaloblastică. Pierderea de proteine prin mucoasa digestivă inflamată este posibilă. Această enteropatie exsudativă secundară se deosebește de cea primară prin aceea că, după tratament, retrocedează doar hipoalbuminemia, edemele, dar nu și hipogamaglobulinemia.

Imunochimie și morfologie. Imunoglobulinele serice totale scad sub 300 mg/1 ml și pot ajunge chiar la 50 mg. Mai frecvent, scăderea este selectivă : IgA și IgM sau IgA și IgG. Deseori, absentă ar fi și IgE. După Hobbs și Hepner, scăderea unei singure imunoglobuline nu dă tulburări apreciabile. Deficitul există nu numai în ser, ci și în secrețiile digestive. Plasmocitele din corionul mucoasei conținînd imunoglobulinele respective sînt împuținate.

Poate ca o compensare, sub acțiunea stimulării antigenice microbiene se produce uneori o hiperplazie limfoidă nodulară, atribuită sistemului timodependent.

Scanned with OKEN Scanner

Vilozităţile intestinale sînt uneori hipotrofice. În cinci cazuri din literatură exista o enterită ulceroasă.

Microbiologie. Tubajul jejunal protejat dă la iveală abundenţa microflorei, mai ales a anaerobilor. Corelaţia ar fi mai bună cu examenul bacteriologic al epiteliului şi al mucusului care aderă de epiteliu, deoarece în special la acest nivel par să acţioneze anticorpii de clasă IgA. Lambliaza este frecventă şi recidivantă.

În carenţele imunitare, suferinţa intestinului a fost explicată prin inflamaţia produsă de excesul microflorei sau de prezenţa lambliei. Sărurile biliare deconjugate de anumite suşe microbiene emulsionează insuficient grăsimile. Acidul deoxicolic rezultat din deconjugare ar fi toxic pentru mucoasa enterică (Brown şi colab.).

Lipsa de paralelism între gradul deficitului imunoglobulinic şi cel al suferinţei digestive s-ar datora variaţiei celorlalţi factori antimicrobieni, care sînt aciditatea gastrică, proteinazele, peristaltica intestinală etc.

Alte mecanisme patogenice. Abilitatea uneori scăzută de transformare a limfocitelor în prezenţa fitohemaglutininei ar sugera şi un deficit imunitar celular. Asocierea relativ frecventă de sindroame reputate ca autoimune a dus însă la ipoteza că sistemul de imunitate întîrziată ar fi hiperactiv. Recent a fost afirmată existenţa unui anticorp antimembrană bazală care ar explica într-alt mod malabsorbţia.

Tulburări, uneori concomitente, ale enzimelor de membrană au reactualizat teoria lui Reiterer, potrivit căreia sistemele bursodependent şi timodependent ar deriva din celule epiteliale invaginate în mezenchim şi ar fi implicate în orice deficit al epiteliului primitiv.

Tratamentul trebuie să înceapă cu antibiotice sau, în caz de eşec, cu sulfamide, mai ales dacă sindromul de malabsorbţie a fost precedat şi aparent declanşat de infecţii ale căilor respiratorii. Se vor evita ciclinele, care pot da efecte secundare intestinale. Prezenţa lambliei impune metronidazolul. Substituţia parenterală de fier, vitamină B 12, acid folic, calciu, albumină umană este uneori necesară. S-a propus injectarea lunară de plasmă proaspătă, gammaglobulină sau IgA provenită din colostru şi lapte uman. Se citează cazuri menţinute asimptomatice timp de mai mulţi ani, cu 10 ml de gammaglobulină la 2—3 săptămîni. Immunoglobulinele n-au scăzut în acest timp sub 200 mg/100 ml ser, dar n-au crescut decît puţin în salivă.

Hobbs şi Hepner relatează un caz în care o grefă de măduvă osoasă a suprimat malabsorbţia şi a dus la popularea mucoasei digestive cu imunocite IgA. În saliva primitorului ar fi apărut IgA dimeră.

2) BOALA LANŢURILOR ALFA

Diagnostic. Descrisă în 1968, de Rambaud şi Seligman, această boală a fost diagnosticată pînă în prezent în peste 50 de cazuri, uneori de-abia după 1—6 ani de evoluţie.

Apare de obicei între 20 şi 50 de ani, mai ales în sînul unor populaţii economic subdezvoltate. Se manifestă prin diaree tenace, dureri abdominale, malabsorbţie, hipocratism digital. Uneori, diareea lasă locul unui sindrom de obstrucţie intestinală progresivă, cu masă palpabilă abdomi-

Scanned with OKEN Scanner

nală. S-au semnalat cazuri cu localizare predominant respiratorie, ceea ce sugerează că boala are caracter sistemic.

Electroforeza serului atrage atenţia printr-o bandă lată între alfa-2 şi beta-globuline, asociată cu benzi reduse de albumine şi gammaglobulină. Imunoelectroforeza cu antiser uman total evidenţiază mai des o linie de precipitare anormală de la alfa-1 pînă la beta-2-globulină lentă. Cu ser anti-IgA se pune constant în evidenţă o linie de precipitare anormală în zona „rapidă", printre arcurile alfa-2-globulinelor. Prin metoda dublei difuziuni a lui Ouchterlony, anti-serul IgA dă precipitare cu IgA normală sau cu proteine de mielom alfa-1, dar nu cu serul bolnavului sau cu un lanţ polipeptidic alfa de referinţă. Precipitarea se produce numai dacă lanţul greu alfa este combinat cu lanţurile uşoare kapa şi lambda. Absenţa acestora din urmă din proteina anormală ce caracterizează boala a fost demonstrată cu ajutorul unor tehnici imunochimice complexe.

Lanţul polipeptidic alfa este prezent şi în urină, într-o concentraţie uneori prea slabă pentru a fi decelat. Îl regăsim desigur şi în sucul intestinal, a cărui cercetare este necesară diagnosticului numai în forma neexcretantă, cînd lipseşte din ser. Activitatea fosfatazică alcalină a serului, în speţă fracţiunea sa „intestinală", este crescută.

Biopsia prin sondă a mucoasei enterice arată hipotrofie vilozitară şi glandulară, epiteliu de înveliş relativ intact şi infiltraţie densă, difuză, a corionului cu celule rotunde, printre care precumpănesc plasmocitele. Imunofluorescenţa lor este slabă cu antiser IgA şi nulă cu antiser de lanţuri polipeptidice uşoare. În cultură de ţesuturi, mucoasa jejunală a sintetizat electiv lanţul greu de IgA, adică lanţul alfa.

La examenul radiobaritat, plicile mucoasei enterice sînt îngroşate, iar lumenul pare uneori deformat de ganglionii mezenterici, a căror hipertrofie o confirmă laparoscopia. Limfografia ar fi totuşi neconcludentă. Laparotomia permite biopsia limfoganglionilor, infiltraţi de plasmocite identice din punct de vedere imunochimic cu ale intestinului. Explorarea operatorie ne poate pune chiar în faţa unui reticulosarcom enteromezenteric şi este posibil ca unele cazuri de limfom malign abdominal, comunicate recent în zona Mediteranei, să intre în cadrul nosologic al bolii lanţurilor alfa.

Patogenia este neclară. Se presupune că hiperplazia plasmocitară nemalignă este produsă de stimuli antigenici locali (parazitari etc.) la indivizi cu igienă precară. Este legitimă presupunerea că anticorpii mucoşi de clasă IgA sînt deficitari şi duc astfel la un dezechilibru al microflorei cu inflamaţie consecutivă. Pe de altă parte, vicierea microbiană a sărurilor biliare a fost incriminată că produce substanţe cancerigene.

Ca *tratament* a fost recomandată administrarea îndelungată a tetraciclinei. Dacă evoluţia este totuşi progresivă, iar biopsiile pe sondă intestinală, etajate şi periodice, relevă o infiltraţie invadantă cu plasmocite atipice, se indică laparotomie cu inventarierea leziunilor. Dezorganizarea histologică a limfoganglionilor mezenterici şi caracterul tumoral al leziunilor intestinale aduc în discuţie exereza chirurgicală, cobaltoterapia, corticoizii şi agenţii alkilanţi.

Scanned with OKEN Scanner

3) BOALA CELIACĂ

Disfuncţia limforeticulară. Au fost comunicate cazuri cu hipotrofie splenică, hipoplazie limfoidă periferică, splenocaptare redusă a eritrocitelor şi slabă transformare limfocitară la fitohemaglutinină. În acest cadru s-ar înscrie scăderea plasmocitelor cu IgM în măduva osoasă şi a IgM în serul celor mai mulţi bolnavi de celiakie netrataţi. Acest deficit s-ar explica mai greu prin pierdere la nivelul mucoasei enterice lezate, în cazurile în care nu a corelat cu hiposerinemia. Defectul genetic de sinteză este improbabil, pentru că de obicei nivelul seric al IgM creşte după instituirea dietei fără gluten. Greu de reţinut este şi ipoteza după care, din cauza malabsorbţiei, ar lipsi un factor necesar sintezei IgM, căci scăderea acesteia nu corelează cu starea de malnutriţie.

În ciuda creşterii sale în ser, IgA pare a fi micşorată în sucul enteric şi chiar în salivă. După Crabbé, plasmocitele cu IgA din corionul mucoasei enterice sînt împuţinate în 2% din cazuri faţă de 1/700 în populaţia generală. Densitatea mărită a plasmocitelor cu IgM ar constitui atunci expresia unui efort compensator. Autorul citat se întreabă dacă, în aceste condiţii, nu este exaltarea enteroflorei aceea care provoacă leziunile mucoasei. Ca argument au mai fost invocate unele efecte terapeutice ale antibioticelor şi injecţiilor de gammaglobulină. O semnificaţie patogenică diferită ar avea deficitul local de IgA, dacă acesta ar fi anticorp blocant, moderator al reacţiilor de hipersensibilitate. Lipsa de „mascare" antigenică prin IgA ar explica frecvenţa mai mare la celiaci a precipitinelor serice faţă de proteine alimentare. De remarcat totuşi că nu s-a găsit în enteropatia la gluten (boala celiacă) cromozomul 18 existent în hipogamma-A-globulinemia „primară". Este, de asemenea, pusă la îndoială semnificaţia asocierii dintre boala celiacă şi deficienţa izolată a IgA, susţinîndu-se chiar că ridicarea nivelului seric al acesteia se datoreşte unui transfer sporit al fracţiunilor sale monomeră şi mai ales dimeră din corionul digestiv. Deturnarea de cauză necunoscută a „piesei secretorii" către IgA din ser ar putea duce la alterarea calitativă a IgA din sucul enteric.

A fost semnalat şi un nivel seric uşor scăzut al IgG, independent de al serinemiei şi deci imputabil unei sinteze scăzute mai degrabă decît unei enteropatii exsudative secundare bolii celiace.

Aproape jumătate din bolnavii de celiakie, studiaţi de Asquith, nu aveau IgD serică.

A fost invocată şi o lipsă a IgE în sucul enteric, pentru a explica de ce numai în unele cazuri de deficit al IgA secretorii (incluzînd totalitatea celor cu enteropatie la gluten) se produc tulburări digestive.

Asocierea bolii celiace cu procese maligne. Ca şi stările patente de deficit imunitar, în celiakie a fost constatată o prevalenţă crescută a proceselor maligne. Cînd în enteropatia la gluten, excluderea acestuia nu mai produce remisiune histologică şi apar dureri sau chiar tumoare abdominală, rash cutanat, stare febrilă, trebuie să ne gîndim la asocierea unui limfom malign sau a unui carcinom digestiv. Pe lîngă hipofuncţia limforeticulară sistemică au mai fost invocate drept cauze posibile: leziunea mucoasei „per se" sau ca loc de pătrundere a unor substanţe carcinogene, carenţe consecutive malabsorbţiei, o hiperfuncţie limfoidă

Scanned with OKEN Scanner

locală, reacții de hipersensibilitate întîrziată (cunoscute ca reprezentînd un risc sporit de reticuloză) (Pemberton).

Predispoziția la malignizare este considerată astăzi drept unul din motivele pentru care dieta fără gluten trebuie ținută de celiacii adevărați pînă la sfîrșitul vieții.

Hipersensibilitatea de tip imediat a fost sugerată de posibilitatea unor reacții violente la ingestia în doze minime a gliadinei (derivat al glutenului). La alte proteine, reacțiile bolnavilor sînt mai slabe sau nule. „Șocul gliadinic" poate fi prevenit prin corticoterapie. Dealtfel, serul indivizilor respectivi conține anticorpi care precipită glutenul și mai puțin alte proteine alimentare. Acești anticorpi au fost însă găsiți și în alte boli digestive, iar în enteropatia la gluten titrul lor nu corelează cu gradul de activitate a bolii. Rolul principal l-ar putea avea anticorpii la gliadină din sucul enteric, decelați numai în boala celiacă. După ingestie de gluten, biopsiatul de mucoasă jejunală conține anticorpi la gliadină, precum și plasmocite cu IgM în cantitate sporită. S-a emis ipoteza că excesul local de anticorpi de clasă IgM precipitanți și fixatori de complement la gluten ar determina un fenomen Arthus, cu lezare a mucoasei enterice.

Găsind în intestinul subțire un număr sporit de plasmocite cu IgM și la celiacii care țin dieta fără gluten, Douglas și colaboratorii se întreabă dacă nu intervin și alte antigene.

Deocamdată este greu de spus dacă „primum movens" al sensibilizării nu îl constituie deficitul IgA secretorii, al peptidazelor de membrană sau al lizosomului. După Shiner și Smerling, la normali, lizosomul izolează vacuolar de restul enterocitului orice polipeptid virtual antigenic. La celiaci, provocarea cu gluten nu ar fi urmată de formarea unor asemenea vacuole, ci de infiltrație densă cu celule rotunde a corionului, în care se presupune că a pătruns antigenul. Cu alte cuvinte, s-ar produce riposta celei de-a doua linii de apărare, reprezentată de plasmocitele cu IgM.

În ce privește existența unor anticorpi serici față de celulele epiteliale ale intestinului subțire, ea este mai mult decît îndoielnică.

Hipersensibilitatea de tip tardiv. Dacă anticorpii din ser și din sucul enteric lipsesc sau nu corelează cu activitatea bolii și nu explică leziunea intestinală, hipersensibilitatea la gluten ar putea fi (și) de tip întîrziat. Transformarea blastică la gluten a limfocitelor din sîngele periferic și din ganglionii periferici sau mezenterici este la celiaci semnificativ mai mare decît la normali. Ea nu se produce la ovalbumină sau la gluten autoclavat și filtrat. Față de alte mitogene specifice sau nespecifice, acțiunea glutenului este slabă. Acest lucru precum și faptul că pielea nu este expusă în mod prelungit acestui antigen explică de ce testele cutanate sînt negative. Transformarea blastică este slabă îndeosebi la celiacii nesupuși dietei fără gluten, pentru că limfocitele lor sensibilizate se concentrează acolo unde aportul de antigen este continuu, adică în mucoasa enterică. Este totuși probabil că lezarea acesteia este doar agravată de hipersensibilitatea întîrziată, care se produce pentru că fragmente de antigen glutenic au acces la imunocitele unei mucoase intestinale prealabil lezate prin alte mecanisme.

Asocierea colagenozei în aproximativ 35 % din cazurile de boală celiacă este documentată clinic și histologic. În cazuri de graniță s-a vorbit de „sprue colagenos". Am arătat că, la celiaci, provocarea cu gluten nu duce, ca la normali, la formarea unor vacuole în enterocite, ci la infiltrație cu

Scanned with OKEN Scanner

celule rotunde în corionul mucoasei. Se mai produc în corion îngroşarea membranei bazale a epiteliului enteric şi a endoteliului vascular, tumefacţie şi proliferare endotelială, inflamaţia vaselor mici, depozitare de colagen. La bolnavii respectivi a fost pusă în evidenţă o crioglobulină circulantă de tip mixt (aparţinînd mai multor clase de Ig). Ea ar putea să reprezinte un complex antigen -anticorp care, depus în vasele mici, să determine vasculita.

Cercetările menţionate sînt disparate şi în parte contradictorii, dar îndreptăţesc speranţa de găsire a unei „chei" pentru ceea ce Doe a numit recent „misterul imun al bolii celiace".

Boala lui Whipple n-a făcut obiectul unor cercetări imunologice. Totuşi, Martin relevă că la nouă bolnavi în remisiune şi trataţi de 1—16 ani cu antibiotice, reacţiile de hipersensibilitate întîrziată erau la toţi deprimate (la cinci din ei, chiar negative la unele antigene). Încorporarea timidinei tritiate în limfocitele lor periferice cultivate în plasmă autologă a fost, după fitohemaglutinină, redusă faţă de normal. În boala lui Whipple ar exista, după autorul citat, o disfuncţie limfocitară care persistă şi în perioadele de remisiune.

4) COLITA ULCEROASĂ

Deficitul imunitar a fost invocat ca factor patogenic subsidiar, întrucît s-au comunicat rare observaţii de colită ulceroasă la indivizi avînd alimfoplazie timică, hipogammaglobulinemie sau deficit selectiv de IgA. Acesta din urmă se asociază însă colitei ulceroase mai rar decît sindroamelor celiace de malabsorbţie. Semnificaţia acestui deficit este cu atît mai mică cu cît el poate exista şi în afara vreunei tulburări digestive.

Imunoglobulinele au fost cercetate în ultimul timp atît în serul, cît şi în pereţii canalului alimentar al bolnavilor de colită ulceroasă, fără ca din aceasta să fi rezultat deocamdată vreun spor de înţelegere a patogeniei acestei boli.

Au fost observate creşteri, la electroforeza serului, ale alfa-2 şi uneori gammaglobulinelor, iar la imunoelectroforeză, ale celor trei imunoglobuline principale. Creşterea poate interesa numai două imunoglobuline sau numai una din ele, îndeosebi IgA. Acest lucru nu corelează însă cu datele anatomoclinice ale colitei şi se mai produce în enterita regională, celiakie, limfogranulomatoza venerică etc. Dealtfel, la o comparaţie între un lot de bolnavi de colită ulceroasă şi altul de normali, valoarea medie a IgA a fost identică.

Concentraţia în ser a IgA secretorii este crescută faţă de normal, dar în mai mică măsură decît la celiaci. Fără a fi specific, faptul trebuie reţinut în măsura în care anticorpii anticolon din serul bolnavilor de colită ulceroasă sînt uneori de clasă IgA secretorie.

Gelernt şi colaboratorii au constatat, după rezecţie de colon ulceros (dar nu şi după anastomoze simple), o ridicare a nivelului IgM în ser. O retroresorbţie prilejuită de operaţie este improbabilă, deoarece nivelul seric al unor proteine cu greutate moleculară mai mică (albumină, IgG, IgA) nu s-a modificat. Fenomenul aminteşte creşterea IgM serice, care se produce după ablaţia unui transplant distrus de gazdă. Este deci îndreptă-

ţită ipoteza că şi leziunile de colită ulceroasă sînt sediul unui atac cu anticorpi de clasă IgM.

La cercetarea prin imunofluorescenţă a fost înregistrată în jejun o înmulţire a celulelor limfoide conţinînd IgM şi IgG, iar în rect o împuţinare a celulelor conţinînd IgA şi IgG.

Alergia alimentară în colita ulceroasă a fost sugerată de ameliorări şi răriri ale recăderilor după excluderea laptelui sau a altor alimente proteinice din regimul alimentar. Pentru natura imunogenă a tulburărilor induse de lapte ar pleda creşterea eozinofilelor din sîngele circulant sau din exsudat, a histaminei din biopsiatul rectal şi a anticorpilor specifici din ser în cursul recăderilor. Titrul iniţial al acestor anticorpi este direct proporţional cu probabilitatea recăderilor. Anticorpii „dietetici" prin ei înşişi nu constituie însă un argument în sprijinul teoriei alergice, deoarece se găsesc şi la normali. Testele cutanate au fost în general negative, dar ele nu pot constitui un criteriu în alergia digestivă.

Autoimunitatea întruneşte cele mai multe sufragii, ca mecanism primar sau secundar de producere a leziunilor colonului, deşi dovezile aduse pînă în prezent nu sînt irefutabile.

În serul celor mai mulţi bolnavi de colită ulceroasă se găsesc anticorpi faţă de mucoasa colonului uman şi animal de diferite specii. Aceeaşi bolnavi au însă adesea şi alţi reactanţi antitisulari: faţă de eritrocite, tireoglobulină, omogenate pancreatice, suspensii de celule ductulare biliare şi parieto gastrice, extracte de ficat, rinichi şi mucoasă enterică, factori antinucleari etc. Prezenţa acestor anticorpi ca şi a celor anticolon nu corelează cu simptomatologia clinică spontană sau sub corticoterapie. Ei nu au fost regăsiţi decît sporadic în peretele colic lezat şi nu par a fi toxici pentru celulele epiteliale de colon în culturi de ţesuturi.

La şobolanii injectaţi cu extract colonic au apărut anticorpi „specifici" în ser, dar leziunile intestinale erau minime şi puteau fi obţinute chiar cu simplul adjuvant Freund. Cînd s-a produs diaree sanguinolentă, fusese vorba de infecţii spontane cu *Salmonella enteritidis*. Leziunile au fost nete la iepuri, dar cu condiţia ca donatorului de colon să i se fi făcut lavmente cu fenol, deci ca leziunile organului-ţintă să preexiste. Cît despre încercările de a provoca o colită ulceroasă experimentală prin injecţii de ser anticolon homo sau heterolog, ele au dat rezultate negative.

Alergia bacteriană. Una dintre explicaţiile date nerecunoaşterii „self"-ului tisular al colonului se bazează pe existenţa microflorei saprofite din intestin. Ea ar putea altera configuraţia antigenică a mucoasei, s-ar putea ataşa de aceasta ca haptenă, i-ar putea furniza adjuvantul prin endotoxine sau alţi produşi metabolici.

Endotoxinele bacteriene ar putea chiar provoca în mucoasa intestinului gros un fenomen Schwartzmann-Sanarelli.

Decelarea în serul bolnavilor de colită ulceroasă a anticorpilor la enterobacteriacee evocă, la prima vedere, răsunetul patogen la distanţă al acestora din urmă. Dacă însă iepurilor şi şobolanilor normali sau crescuţi steril li se administrează anumite suşe de colibacil sau clostridium, în serul animalelor apar anticorpi anticolon. Anticorpii anticolon din serul bolnavilor de colită ulceroasă se pot absorbi *in vitro* cu extracte de colibacil. Faptul nu este imputabil contaminării bacteriene a antigenului de colon, deoarece se produce şi cu anticorpii obţinuţi experimental prin

injecţii de extract colonic, chiar dacă animalul primitor şi cel donator au fost crescuţi în condiţii de sterilitate. Explicaţia rezidă în existenţa unor determinanţi antigenici comuni mucoasei colice şi unor microbi comensuali ai intestinului.

Hipersensibilitatea de tip tardiv a fost cercetată, în primul rînd, pentru că cea de tip imediat nu oferă explicaţii destul de clare şi, în al doilea rînd, pentru că în reacţiile tisulare la antigeni microbieni imunitatea celulară este de obicei implicată. Testele cutanate cu antigeni de colon steril sau de enteroflor au fost negative. Transformarea blastică a limfocitelor circulante ale bolnavilor a fost normală, cu extract de mucoasă colonică sau de enterobacteriacee, cu fitohemaglutinină sau tuberculină.

Limfocitele bolnavilor de colită ulceroasă sînt toxice pentru culturile de celule epiteliale colonice, dar nu pentru cele gastrice, enterice, hepatice sau renale. Această citotoxicitate scade însă rapid după colectomie şi se obţine cu limfocite normale preincubate în ser de colitic ulceros sau în lipopolizaharid extras din colibacil.

Shorter şi colaboratori consideră că acţiunea specifică de recunoaştere a celulei-ţintă este exercitată de un anticorp umoral care se asociază membranei limfocitului. În experienţele lor cu limfocite provenite de la colitici ulceroşi, supernatantul acelular îşi păstra proprietăţile citotoxice.

Răspunsul inflamator descris în mucoasa rectală a unui bolnav după injecţia locală cu leucocite autologe n-a fost confirmat.

Se documentează hipersensibilitatea de tip tardiv cu inhibiţia produsă de omogenate de colon sau de jejunoileon fetal asupra migraţiei în tub capilar a limfocitelor de bolnavi de colită ulceroasă. Fenomenul se produce într-o proporţie semnificativ mai mică la normali şi în alte boli gastrointestinale sau cu omogenate de ficat, rinichi, suprarenale etc.

Concluzii. Anticorpii anticolibacilari din serul bolnavilor de colită ulceroasă ar putea fi consideraţi, la prima vedere, drept semnul unei transformări patogene a florei saprofite. Faptul nu este verosimil, între altele, şi pentru că titru semnificativ are îndeosebi anticorpul la *E. coli* O14, a cărui antigenicitate reacţionează încrucişat cu cea a epiteliului de colon steril şi, în subsidiar, cu cea eterogenă a majorităţii enterobacteriaceelor.

Dacă mecanismul primar de lezare a mucoasei este neimun, trebuie să admitem că leziunea acesteia permite accesul la locurile de anticorpogeneză a antigenului microbian amintit, faţă de care toleranţa imună nu fusese niciodată stabilită.

Bolile inflamatorii cronice intestinale, mai frecvente în familiile bolnavilor de colită ulceroasă, au dus la ipoteza că această boală este rezultatul respondenţei la stimuli, crescută prin defecte de homeostazie imună. În acelaşi sens a fost interpretată prezenţa serică, la rude ale bolnavilor de colită ulceroasă, a anticorpilor anticolon. Studiul antigenelor eritrocitare şi leucocitare, al unor enzime eritrocitare şi al cariotipului nu susţine deocamdată această ipoteză.

Obiecţia cea mai importantă adusă teoriei autoimune umorale o constituie, pe lîngă complementul seric normal, prezenţa anticorpilor anticolon în serul altor categorii de bolnavi şi chiar al normalilor, la care ar face parte din aşa-numiţii izoanticorpi naturali. Totuşi, cu antigen colonic de om din grupul sanguin O, testarea acestor anticorpi la bolnavii de colită ulceroasă este semnificativ crescută în comparaţie cu subiecţii de control.

Scanned with OKEN Scanner

Este de sperat că ameliorarea tehnicilor de extracție și separare antigenică va contribui la scoaterea acestei probleme din impasul ei actual.

Tratamentul imunosupresiv a fost încercat cu 6-mercaptopurină, nitrogen-mușstar, clorambucil și mai ales azatioprină. Rezultatele sînt uneori încurajatoare, dar nu trebuie uitate nici evoluția capricioasă a bolii și nici efectele secundare ale tratamentului. Dintre acestea amintim leucopenia, susceptibilitatea la infecții și prevalența crescută a neoplasmelor, adăugată riscului de cancer al colonului la care se află oricum bolnavii de colită ulceroasă. Este bine ca azatioprina să fie rezervată cazurilor grele, care nu răspund la corticoterapie sau nu o suportă. De asemenea, este bine ca doza zilnică pe kilocorp să nu fie mai mare de 2 mg.

Corticoterapia a făcut mai demult dovada utilității în cazurile severe, dar acțiunea ei terapeutică este complexă, nu numai imunosupresivă (Fodor și Nicoară).

Asemănător corticoizilor pare să acționeze acidul 5-amino-salicilic din molecula unui agent antibacterian mult folosit în colita ulceroasă, salicilazosulfapiridina.

Un efect anti-autoimun i-a fost atribuit și acidului epsilon-amino-caproic, recomandat în această boală mai ales pentru fibrinoliza excesivă care se presupune că se produce în mucoasa rectală.

Efecte parțiale și efemere ar fi fost obținute cu ser și globulină antilimfocitară.

Se preconizează, pentru prevenirea recăderilor, desensibilizarea cu extract de colon. Această idee ne readuce însă la problema purificării antigenice.

5) BOALA LUI CROHN

Testele cutanate la tuberculină și transformarea blastică la fitohemaglutinină a limfocitelor T prelevate de la bolnavii de enterită regională (boala granulomatoasă a intestinului sau boala lui Crohn) sînt adesea aproape negative, ca în bolile cu deficit imunitar. Geffroy a obținut ameliorări clinice stimulînd apărarea cu BCG. Injectîndu-se unor șoareci normali omogenate de intestin subțire sau de limfoganglioni de boală Crohn s-au produs granuloame. Într-o cultură de limfocite de boală Crohn, în care amestecaseră celule de limfom, MacLaurin și colaboratorii au constatat o slabă limfotoxicitate. Acești autori se întreabă dacă granulomul și chiar cancerul intestinal, mai frecvent în cazurile vechi, nu sînt rezultatul unui dezechilibru între procesele proliferative și riposta citotoxică a limfocitelor, în sensul slăbirii acesteia din urmă. Interpretarea fenomenului observat *in vitro* nu trebuie, credem, forțată. De pildă, în cultură de țesuturi, limfocitele din sîngele periferic al bolnavilor Crohn se arată toxice față de celulele epiteliale ale colonului uman, dar nu față de cele ale stomacului, ficatului și rinichiului. Cu extract de fecale sau de colon rezecat în cazuri de colită ulceroasă, transformarea blastică a limfocitelor de bolnav Crohn a fost mai intensă ca la normali.

În ceea ce privește testul Kveim, el a fost pozitiv în jumătate din cazuri. Teste cutanate cu extracte tisulare ale bolnavilor n-au fost obținute.

Inhibarea *in vitro* a migrării leucocitelor bolnavilor prin omogenat de intestin fetal, ca test de hipersensibilitate tardivă, a fost negativă.

Scanned with OKEN Scanner

Apariţia bolii lui Crohn într-un caz de agammaglobulinemie de tip Bruton a fost adusă ca argument împotriva patogeniei imune a celei dintîi. În boala lui Bruton, mecanismele imunităţii celulare sînt însă intacte. A fost semnalată asociaţia hipogamma-A-globulinemiei selective cu boala granulomatoasă a intestinului. În cazuri rare, cu leziuni extensive ale acestuia din urmă, IgA (inclusiv fracţiunea „secretorie") este însă crescută în ser. Concomitent, IgG şi IgM sînt normale sau uşor scăzute, prin pierdere la nivelul mucoasei enterice, dar şi prin catabolism mărit. La cîteva zile după rezecţii intestinale, Gelernt şi colaboratorii găsesc în boala Crohn, ca în colita ulceroasă sau după ablaţia unui transplant renal respins, ridicarea nivelului seric al IgM.

Mai rar ca în colita ulceroasă, dar mai des ca la normali, serul bolnavilor Crohn conţine anticorpi faţă de fecalele şi de mucoasa colonului de şobolan crescut steril sau în condiţii normale. Aceşti anticorpi erau activi şi faţă de *E.coli* 0,14, ceea ce repune problema imunităţii încrucişate în aceiaşi termeni ca la colita ulceroasă. În boala lui Crohn nu s-au pus în evidenţă anticorpi circulanţi faţă de celulele parieto-gastrice, tiroglobulină, factori antinucleari etc.

Anticorpi la proteine alimentare — cazeină şi lactoglobulină — au fost găsiţi aici mult mai rar ca în colita ulceroasă.

Precum se ştie, boala granulomatoasă intestinală are asemănări clinice şi epidemiologice cu colita ulceroasă, de care se deosebeşte totuşi din punct de vedere morfologic şi adesea topografic. Datele de patogenie imună sînt pentru boala Crohn mai sărace şi mai neclare încă decît pentru colita ulceroasă. Pentru moment, ele nu confirmă şi nici nu infirmă înrudirea celor două boli.

De importanţă practică este însă faptul că tratamentul imunosupresiv a dat în boala Crohn rezultate egale sau chiar mai bune decît în colita ulceroasă, notîndu-se uneori închiderea eventualelor fistule.

B. MECANISME AUTOIMUNE ÎN HEPATITELE CRONICE AGRESIVE ŞI CIROZE

ŞT. BERCEANU

Există multe argumente clinice, morfologice şi imunoserologice care pledează pentru natura autoimună a bolilor de ficat cu autoîntreţinere. Au fost realizate modele experimentale care prin injecţii de Ag hepatice etero, izo- şi chiar autologe să reproducă o hepatită cronică evolutivă. Cele mai vechi cercetări s-au făcut în 1907 şi apoi în 1933 (Hughes). Perioada care începe după, 1955 se continuă şi astăzi cînd descoperirea Ag Australia, izolat sau în complexe imune, pare să aducă o lumină nouă în fenomenele de self-perpetuare.

La om, cercetări mai întinse s-au făcut în febra galbenă cu atingere hepatică, în ciroza biliară (Holman şi Tomasi, 1960) şi ceva mai puţin în hepatita cronică şi cirozele postnecrotice sau portale (Weir şi Holborow,

Scanned with OKEN Scanner

1965; Gaydusek, 1958; Ciobanu, 1959, 1964; Iliescu, Berceanu şi colab., 1963; Fodor şi colab., 1970). Hepatita lupoidă, descrisă ca o boală hepatică cronică severă cu caractere evolutive de boală generală imunologică, pare să demonstreze la om mecanismul de leziune autoimună.

Cercetările experimentale au urmărit să pună în evidenţă posibilităţile de izo- şi eteroimunizare, folosindu-se adjuvantul Freund şi urmărindu-se producerea de Ac specifici şi de leziuni hepatice cu caractere imune şi autoimune (Jahiel, 1961; Iliescu, Berceanu şi Radu, 1963; Ciobanu, 1964). Anticorpii obţinuţi pînă acum nu au dovedit o capacitate bine determinată de a evidenţia unele Ag celulare hepatice cu o anumită structură. Mecanismul imunologic din hepatita cronică se bazează pe caracterul leziunilor histopatologice, la care se adaugă prezenţa în complexe imune de Ag Australia puse în evidenţă recent prin cercetări electronice şi de imunofluorescenţă (Bang, 1969; Blumberg şi colab., 1969; Almeida şi colab., 1969; Vogel şi colab., 1972).

Bazele imunomorfologice. În formele evolutive de hepatită subacută sau cronică, precum şi în hepatitele colostatice, primitive sau secundare, care duc la ciroza biliară, sînt constante cîteva leziuni care pot fi interpretate ca substrat sau consecinţă a mecanismelor imunopatologice. Urmărite în evoluţia lor, după acţiunea unui toxic administrat acut sau cronic ca tetraclorura de carbon (Iliescu şi Berceanu, 1962) sau după o izoimunizare cu extracte hepatice, leziunile considerate caracteristice sînt cu totul comparabile cu cele găsite la om urmărite prin puncţie hepatică în diverse faze de hepatită evolutivă (Berceanu şi colab., 1964).

Modificarea iniţială pare să fie degenerescenţa sau necroza celulelor hepatice parenchimatoase. Folosirea coloraţiei Hotchhiss-Mac Manus a pus în evidenţă leziunea particulară de degenerescenţă celulară, cu încărcare de material PAS-pozitiv diastazo-rezistent (Popper şi colab., 1965; Iliescu şi Berceanu, 1962). În cercetări pe un număr de peste 100 de puncţii hepatice şi pe material experimental de la 140 de animale s-au remarcat focare de degenerescenţă şi necroză trabeculară, în general la periferia lobului hepatic sau pericentro-lobular. Celulele alterate îşi modifică volumul şi structura şi conţin granule sau un material omogen PAS-pozitiv diastazo-rezistent (fig. 31). Uneori, celulele sînt mai mici, ratatinate, alteori sînt mari şi prezintă semne de hiperplazie cu nuclei giganţi.

Un fapt caracteristic este intricarea acestor celule degenerate şi încărcate PAS-pozitiv cu celule inflamatorii de tip histiolimfocitar şi uneori plasmocitari. Infiltraţia limfocitară se dispune în jurul focarelor necrotice, limfocitele putînd pătrunde între celule şi dispunîndu-se ca în fenomenul de peri- şi emperipoleză. Complexul celular mixt, conţinînd celule hepatice degenerate cu încărcare PAS-pozitivă şi celule inflamatorii limfoplasmocitare, celule Kupffer în transformare histioidă, constituie leziunea denumită „piece-meal necrosis"; leziunea este considerată de Popper şi colaboratori ca expresie morfologică a self-perpetuării leziunilor din hepatita cronică. S-ar părea că materialul PAS-pozitiv din celulele degenerate constituie un factor de atracţie al celulelor inflamatorii considerate ca celule imunologic competente, Lc şi plasmocite; Popper insistă asupra participării celulelor canaliculare libere, în general hiperplaziate, în aceste leziuni. În lucrările noastre, participarea invaziei de celule canaliculare este evidentă, însă încărcarea lor PAS-pozitivă este foarte

Scanned with OKEN Scanner

rară. Este discutabilă apoi semnificaţia patogenică a hiperplaziei celulelor Kupffer în leziunile cu caracter imun. În materialul nostru, există o hiperplazie a celulelor Kupffer cu încărcare de material PAS-pozitiv diastazo-rezistent, uneori foarte marcată în hepatitele prin izoimunizare şi în hepatitele colostatice la om. Există o evidentă transformare de celule Kupffer în celule histioide şi chiar în celule cu caracter de plasmocite. Aceasta arată că nu este exclusă o hiperplazie specifică imună a aparatului celular mezenchimal local cu dediferenţiere spre celulele reticulohistioide şi apoi spre celulele plasmocitoide, formatoare de Ac.

Criterii imunoserologice. În variatele modele experimentale, în care s-a folosit mai ales izoimunizarea cu extract apos de ficat în adjuvant Freund, s-au pus în evidenţă Ac circulanţi prin metodele curente (R.F.C., hemaglutinare Boyden, dublă difuziune în gel), cu o frecvenţă variabilă, însă semnificativă (Iliescu şi colab.). Prin reacţia de aglutinare cu particule de latex, Ac apar într-un procent mai mare, însă se ştie că specificitatea acestei reacţii este discutabilă. În cercetările noastre, Ac au o activitate cross-reactantă faţă de Ag renale în reacţia de precipitare în gel, care apar pozitive la 57,14% din animale.

Anticorpii antihepatici la om apar într-un procent mare prin R.F.C. (Mackay, 1971). În hepatita lupoidă Ac apar la 40% din cazuri şi au un titru înalt. După relatările majorităţii autorilor (Mackay şi Burnet, 1963; Tomasi, 1965), Ac autoimuni F.C. se găsesc în orice boală imună prelungită atît la om, cît şi la animal şi nu sînt specifici de organ. Nu se cunoaşte mecanismul apariţiei acestor Ac nespecifici, însă este unanim acceptat că în hepatita cronică nu au nici un rol în instalarea şi perpetuarea leziunilor hepatice. În cercetări recente, Wiedermann şi colab. (1965) au arătat că izo-Ac specifici pentru lizosomii hepatici au chiar o acţiune protectoare faţă de membranele acestora şi în nici un caz o acţiune imunopatologică. În cercetări proprii la bolnavi Ag hemaglutinaţi, prin reacţia cu hematii tanate apar pozitivi într-un procent mare, în special în hepatitele cronice cu disglobulinemie. Popper şi colab. au căutat să demonstreze o acţiune specifică a auto-Ac pentru celulele canaliculare încărcate cu material PAS-pozitiv şi pentru celulele hepatice din focarele de P.M.N. Prin imunofluorescenţă, autorii susţin o specificitate a Ac pentru materialul PAS-pozitiv, care ar fi Ag specific imunizant, în condiţii patologice (Popper), fapt susţinut şi de alţi autori. Ag hepatic este, după Popper, un polizaharid şi apare în celulă după o alterare de natură variată (virotică, toxică, metabolică etc.) a acesteia. Eliberarea sa în interstiţiul hepatic ar putea să autoîntreţină leziunile prin formare de complexe toxice cu Ac cărora le-ar da naştere. Injectînd Ag pe cale biliară retrogradă, s-au obţinut leziuni specifice de P.M.N. Prezenţa sa în celulele hepatice sau canaliculare, infiltratele limfoplasmocitare şi creşterea de IgG în sînge şi chiar în ficat, printr-o geneză locală, sînt elemente care pot să susţină existenţa unui mecanism autoimun (tabelul nr. 37). Nu există însă nici o dovadă că leziunile sînt produse şi întreţinute prin acţiunea directă a Ac; este posibilă însă o acţiune toxică a complexelor Ag — Ac care s-ar forma. În ansamblul lor, leziunile hepatice seamănă întrutotul cu cele din boala „runt", prin reacţia grefei contra gazdei, unde apare o hepatită cu infiltraţie limfocitară, cu dispoziţie de P.M.N. şi cu imagini de peri- şi emperipoleză. În hepatita lupoidă sau în unele hepatite severe, la femeie, infiltratele limfoide

Scanned with OKEN Scanner

au focare germinative asemănătoare celei din boala „runt". În experiențele noastre, I.D.R. de tip tardiv, la animal, cu Ag hepatice, a dat rezultate pozitive la 19,4% din cazuri.

Tabelul nr. 37

Mecanismele presupuse în procesele de autoagresiune și autoperpetuare în hepatita cronică (după Popper, 1965)

Teoria autoimună		Teoria self-perpetuării
Hepatită (virus etc.)		Oarecare leziune hepatică
Reacția limfoidă		Reacție mezenchimală 1, în ficat 2, în ganglionii limfatici regionali și în splină
	Reacții serologice eratice	3, generalizată
Celule imunologic competente caracteristice L.E.		Reacții imune, nu neapărat îndreptate contra antigenelor hepatice, depinzînd de sensibilizare și de predispoziție
	Manifestări sistemice (lupoide)	1, anticorpi 2, întîrziate (hipersensibilitate celulară)
Efect (autoagresiv)		3, antigen -anticorp complecși (foarte probabil)

După 1965, cercetările la om au adus noi argumente pentru natura autoimună în hepatita lupoidă și în ciroza biliară, iar în jur de 1970 cercetările asupra Ag Australia par să dovedească, cel puțin pentru anumite faze, intervenția complexelor imune.

Continuîndu-și investigațiile anterioare Mackay și colab., consideră hepatita lupoidă determinată de anumite dereglări imune mai complexe cu disgammaglobulinemii, însă în general fără scăderi de C′ și cu apariția de auto-Ac specifici pentru mai multe organe și țesuturi. Astfel apar Ac specifici de organ pentru tiroidă, fibra musculară netedă pentru nucleoproteine și fracțiuni citoplasmice ca mitocondriile și microsomii. Ac sînt de tip IgG existînd concomitent și factori serici ca F.R. și F.L. Pentru fracțiunile antigenice citoplasmatice apar Ac fixatori de C′ la 25—30% din cazuri, cu titru mai mare de 1/8.

Ac antifibrină musculară netedă apar în capilare și glomeruli, în spațiile porte și în alte țesuturi; ei par să fie legați în complexe imune și se detectează prin metodele de imunofluorescență cu o frecvență de 70% din cazuri de hepatită agresivă (Wittingham și colab., 1966). Se găsesc de asemenea în L.E.D. (Johnson și colab., 1965), precum și în alte forme de boli hepatice cronice sau acute; cu o frecvență mai redusă de 10% apar în P.C.E., la martorii normali nedepășind 1%. În hepatita lupoidă și în forma agresivă cronică Ac F.R. apar la 50% din cazuri, în ser, și se detectează ca secretați de limfocitele și plasmocitele hepatice (Mackay, 1971). Dereglările imune mai complexe pun în evidență frecvența testului Coombs la 12% din cazuri cînd poate să apară și o anemie hemolitică autoimună. Apar de asemenea și Ac antitiroidă la 20—28% din cazuri (Doniach, 1966).

Scanned with OKEN Scanner

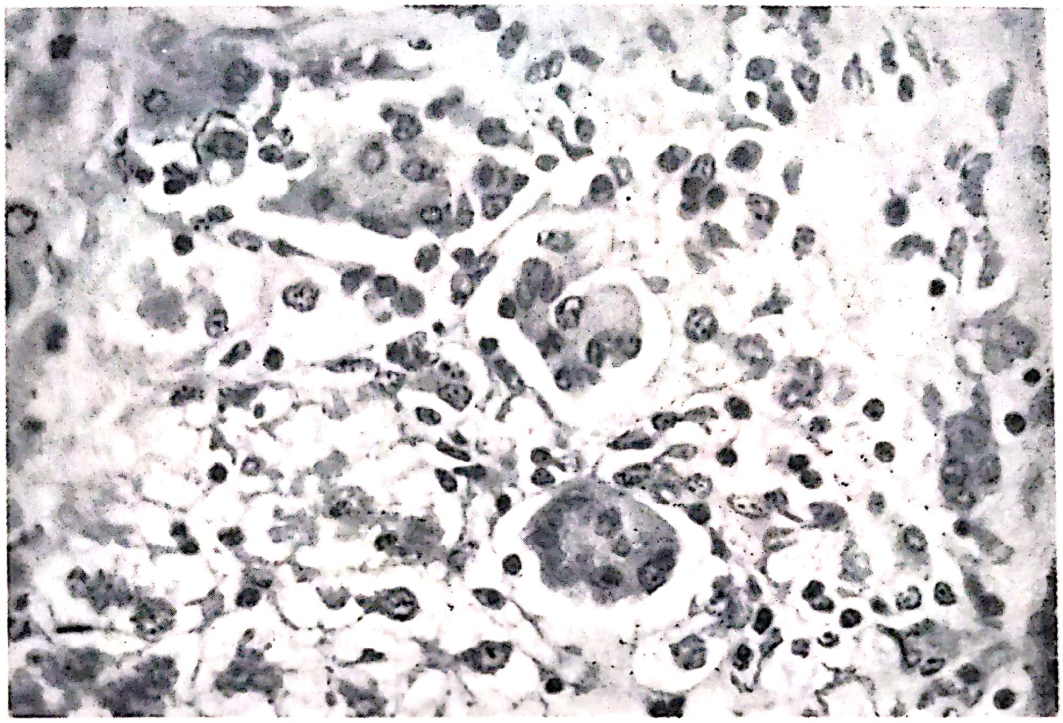


Fig. 31. — Leziuni hepatocelulare cu încărcare de material PAS-pozitiv în hepatita toxică experimentală (după Berceanu şi colab. 1963).

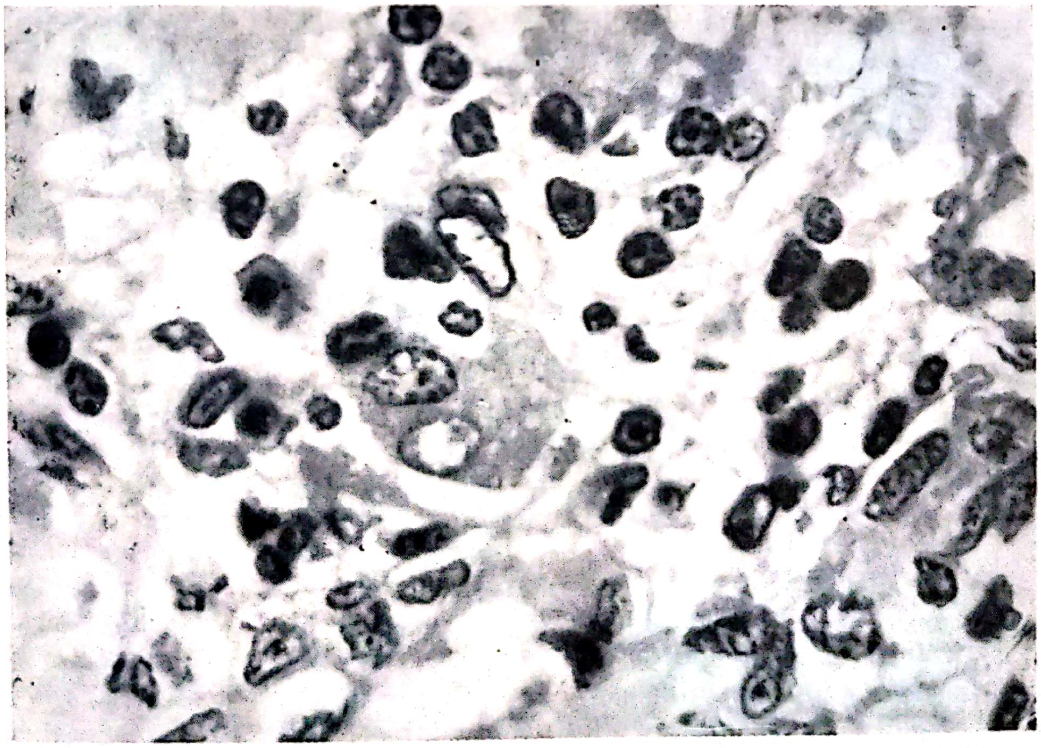


Fig. 32. — Leziune de „piece-meal necrosis" în hepatita cronică umană.

Scanned with OKEN Scanner

De remarcat că deşi s-a dovedit existenţa de Ag specifice de organ pentru celule hepatice, Ac specifici numai pentru celula hepatică sînt discutabili. Astfel se discută specificitatea celor detectaţi prin reacţia cu hemaglutinare Boyden, imunofluorescenţă şi R.F.C., dar contestaţi de Mackay şi Roitt şi colab. (1965). În ciroza biliară, în forma sa primară Hanot, s-au pus în evidenţă Ac anticelule hepatice cu specificitate mai ales pentru mitocondri cu frecvenţă de 80—100% din cazuri. Ac au o afinitate specifică prin imunofluorescenţă pentru membranele interne mitocondriale, însă aceeaşi afinitate se dovedeşte şi pentru mitocondriile din canaliculele biliare şi chiar renale. Ca şi în hepatita agresivă apar dereglări imune mai complexe cu Ac antinucleari la 30—70% din cazuri, antifibră musculară netedă la 10—50% din cazuri, cu hipergammaglobulinemie de tip policlonal în care predomină IgM care pare să fie auto-Ac (Paranetto, 1967).

Ipoteza bolii prin complexe imune susţinută după 1965 de către Popper, bazat mai ales pe prezenţa în leziunile de „piece-meal necrosis" a materialului PAS-pozitiv capătă acum o nouă semnificaţie prin punerea în evidenţă a Ag Australia. Complexele imune cu Ag Australia prezente în hepatita acută (Balş, 1970, 1972), cu frecvenţă foarte mare şi cu o frecvenţă variabilă în hepatita cronică (Bruckner şi colab., 1971, Fodor şi colab.) pot să condiţioneze simptomele generale cu febră, artralgii, erupţii cutanate, leziuni de P.A.N., aşa cum apar în hepatita acută (Sherlock, 1970). Deşi C′ seric apare normal, prin imunofluorescenţă în complexele imune din leziuni se pot pune în evidenţă şi fracţiuni de C′ (Brzosko şi colab., 1970), cînd poate să scadă şi în ser. Scăderea serică poate să fie determinată însă şi de insuficienta sinteză a fracţiunilor C′ în ficat (Grob şi colab., 1971).

Teoria complexelor imune prin persistenţa Ag Australia se încadrează bine în teoria self-perpetuării din bolile autoimune.

În hepatita cronică, ca şi în cea acută complexele imune cu Ag Australia prezente în lucrările citate nu sînt confirmate de alte cercetări (Combes şi colab., 1971 ; Guardia şi colab., 1972).

Alte investigaţii pentru un mecanism autoimun s-au făcut asupra sensibilizării de tip tardiv şi a acţiunii agresive anticelulă hepatică prin Lc autosensibilizate. Testele acute de transformare blastică a Lc şi de inhibiţie a migrării macrofagelor prin Ag hepatice solubile par să aducă contribuţii pozitive. Leziunile de „piece-meal necrosis" cu dislocarea celulelor hepatice (fig. 32) prin Lc dispuse pericelular sugerează un efect citotoxic *in vivo*.

Se poate conclude că leziunile morfologice, alterările imune serologice şi celulare specifice şi nespecifice, precum şi prezenţa Ag Australia sînt argumente noi importante pentru natura de boală imună a unor boli cronice de ficat.

Terapia hepatitei cronice agresive, precum şi a altor boli hepatice cronice, în care self-perpetuarea se presupune că este prin mecanisme autoimune, are baze teoretice pentru folosirea unor metode care să corecteze dereglarea imună. Corticoterapia, la care se poate asocia Imuran sau Endoxan, se bazează în primul rînd pe parametrii nespecifici de imunitate, infiltraţia limfoplasmocitară în leziune, disgammaglobulinemia şi uneori auto-Ac specifici şi nespecifici : auto-Ac fixatori de C′, auto-Ac pentru fibra musculară netedă, test Coombs pozitiv etc. Recent, testele pentru sensibilizarea Lc par să fie un parametru care impune terapia citotoxică imunodepresivă şi corticoterapia. Răspunsul bun se poate aprecia după

Scanned with OKEN Scanner

diminuarea sau negativarea testelor de sensibilizare a Lc. Eșecurile sînt încă multe și se pot explica prin faptul că terapia imunodepresivă nu controlează sau chiar poate accentua deficitul imun care stă la baza self-perpetuării și a persistenței Ag. În perspectivă trebuie căutate metode de terapie biologică prin care să se elimine Ag restante sau să se inhibe, pe altă cale decît corticoterapia și citostaticele, formarea de Ac și de complexe imune.

C. MECANISME AUTOIMUNE ÎN ANEMIA PERNICIOASĂ BIERMER (A.P.B.)

ȘT. BERCEANU

A.P.B. în forma sa clasică descrisă de Addison și Biermer este considerată ca o boală esențială determinată patogenic de scăderea sau absența factorului intrinsec Castle care condiționează malabsorbția de vitamina B_{12}. Sînt bine cunoscute apoi formele de anemie pernicioasă secundare bolilor digestive care pot afecta resorbția de vitamină B_{12}, de acid folic sau de alți factori din complexul vitaminei B.

Incidența sa familială și relația cu alte boli a dus la ipoteza unei determinante genetice care se transmite autosomal recisiv. Natura de boală prin dereglare genetică a fost reconsiderată recent în sensul unei boli autoimune în care ar exista o dereglare congenitală și familială a toleranței imune, cu apariția de Ac față de mai multe structuri antigenice și în special față de celulele mucoasei gastrice, celulele tiroidiene și factorul Castle (Doniach și Roitt, 1965; Irvine, 1965).

Ipoteza unui mecanism autoimun în boala Biermer se bazează pe observația clinică inițială la bolnavii tratați cu mucoasă proaspătă eterologă de porc și cu vitamina B_{12} *per os*. După o anumită perioadă de răspuns bun apare o rezistență presupusă că s-ar datora apariției de auto-Ac în ser față de Ag de mucoasă și de factor Castle eterolog care, blocate în complexele imune, împiedică resorbția vitaminei B_{12} (Taylor, 1969).

Argumentele cele mai importante de boală imună sînt bazate pe cercetările la om care au pus în evidență auto-Ac specifici.

Autoanticorpii pentru mucoasa gastrică. Extractele saline din celulele de mucoasă gastrică în R.F.C. și în reacția de hemaglutinare pasivă dau rezultate pozizive la aproape 90% din cazuri cu serul bolnavilor de A.B. S-a dovedit că Ag care dau R.F.C. sînt în fracțiunea microsomală din celulele peretelui gastric și din celulele tiroidiene (Taylor, 1962). Nu au relație cu ribozomii, ci cu membranele lipoproteice din veziculele infrastructurale, care se găsesc în stratul microsomal după ultracentrifugare. Serurile pozitive pentru R.F.C. dau rezultate întrutotul paralele în testele de imunofluorescență pe secțiune la criostat de mucoasă gastrică. Ag sînt specifice de organ, rezultatele fiind pozitive cu mucoasa gastrică de la mai multe specii (maimuță, cîine, șobolan, șoarece, om). Nu prezintă variații în timp și nu au relație cu frecvența sau titrul Ac anti-F.C. (Samloff și colab., 1968).

Scanned with OKEN Scanner

Autoanticorpii pentru F.I. s-au pus în evidenţă prin două tehnici speciale bazate pe acţiunea Ac de a fixa F.I., interferînd capacitatea acestuia de a se lega cu vitamina B_{12} radioactivă. Astfel, testul Ardeman-Chanarin (1963) evidenţiază cea mai mare diluţie de ser de testat care, incubată cu suc gastric normal (F.I.), împiedică fixarea vitaminei B_{12} pe F.I. Vitamina B_{12} nefixată pe F.I. poate fi ulterior adsorbită pe cărbune activat sau, după Abels (1963), poate fi determinată cantitativ prin dializă. Aplicarea metodei *in vivo* (Schwartz, 1960), demonstrează efectul inhibitor al Ac prin aceea că nu se mai poate resorbi complexul F.I. + vitamina B_{12} de către mucoasa gastrică a bolnavilor cu A.B. netratată. Aceste variante dau însă rezultate mai slabe, frecvenţa Ac apărînd cam de 33—45%, pe cînd prin testul Ardeman-Chanarin aproape 55—60%. Întrucît nu există o concordanţă între Ac faţă de F.I. şi cei faţă de celula gastrică, se consideră că aparţin la sisteme imune diferite (Roitt şi Doniach, 1965). S-a precizat în plus că Ac care dau testul Ardeman-Chanarin sînt Ac de tip I, blocanţi, specifici pentru situsurile combinative ale F.C., împiedicînd legarea vitaminei B_{12} în complexele de transfer; Ac care blochează transferul complexelor deja formate, de F.C. + vitamina B_{12} sînt Ac de tip II de legare cu complexele. Ac blocanţi de tip I se pot pune în evidenţă prin restul de *retenţie electroforetică*.

Schema din figura 33 facilitează înţelegerea importanţei testului. Electroforeza vitaminei B_{12} cuplată cu F.I., în prezenţa de ser normal, arată o migraţie foarte redusă (sub 10% din radioactivitatea sa totală). După incubarea complexului vitaminei B_{12} + F.I. cu ser de A.B., migrarea vitaminei B_{12} este foarte mare (depăşeşte 60%). Aceasta arată că factorul seric imun, interferînd cu F.I., eliberează vitamina B_{12}, acţionînd ca un Ac de tip I.

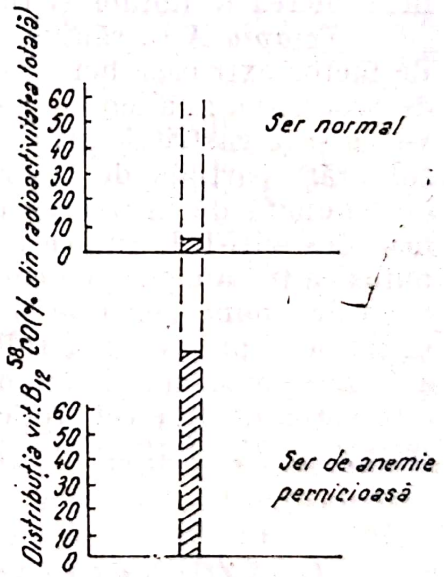


Fig. 33. — Testul de retenţie electroforetică: serul de anemie P.B. inhibă acţiunea facorului intrinsec, lăsînt liberă vit. B_{12} care migrează electroforetic (după Irvine, 1965).

În A.P.B. la copii se distinge o formă care apare în primii doi ani şi alta care apare mai tîrziu. Prima diferă de boala adultului, fiind fără atrofie gastrică prin Ac cu secreţie variabilă de acid clorhidric. Deficitul de F.C. ar fi genetic, molecular, la nivel de celulă gastrică. A doua formă seamănă cu cea de la adult şi se dovedeşte a fi tot cu auto-Ac care ar putea bloca secreţia de F.C. (Lilibridge şi colab., 1966; Mc. Intyre şi colab., 1965).

Prezenţa Ac antimucoasă gastrică şi anti-F.I. nu lămureşte însă mecanismul tulburărilor din A.B. Nu se ştie pe ce cale se produce această autoimunizare. Acţiunea iniţială a unui virus sau a altor factori de leziune care să producă primele alterări morfologice şi să elibereze produse antigenice modificate din F.I. sau mucoasa gastrică, nu s-a dovedit. În condiţii de alterări toxice sau fizice de mucoasă, cu eliberare de Ag, nu apar Ac de organ sau faţă de F.C. (Ashurst, 1968). Se poate ca defectul gene-

tic întîlnit în boala Biermer să fie un defect de homeostazie imună, condiționînd o slabă toleranță imună față de Ag din mucoasa gastrică și epiteliul tiroidian, așa cum se susține și pentru boala Hashimoto. După Roitt, A.B. la tineri, la care nu se găsesc auto-Ac serici, ar fi printr-un defect genetic, care condiționează deficitul de secreție gastrică. La adult, A. B. pare să fie de natură autoimună, așa cum arată prezența auto-Ac. Nu se știe însă cum apar Ac în gastrita atrofică cu deficit de secreție a F.I. și ce rol au aceștia asupra tulburărilor din A.B. Nu s-a dovedit acțiunea directă cu producere de leziuni a auto-Ac. Asupra leziunilor de gastrită există unele corelații între prezența Ac antimucoasă gastrică, leziunile infiltrative cu Lc și reacțiile cutanate de sensibilitate tardivă la bolnavi. Se semnalează chiar fenomenul de emperipoleză al limfocitelor în celulele gastrice din gastrita atrofică, așa cum s-au găsit în tiroidită ; leziunile ar putea să se producă pe această cale, găsindu-se o corelație cu tulburările imune, iar Lc dovedind o sensibilizare față de Ag *in vitro*.

Acțiunea Lc sensibilizate specific se poate susține avînd în vedere asemănarea de leziune și antigenitatea comună între gastrita atrofică din A.B., boala Hashimoto și insuficiența cortico-suprarenală considerată de natură imună (Witebsky și Milgram, 1962 ; Simionescu, 1967).

Dacă în boala Hashimoto există condiția pentru explicarea patogeniei sale ca boală autoimună, în A.B., ca și în insuficiența cortico-suprarenală cronică din boala Addison, testele imune pun în evidență existența unor reacții autoimune pentru care nu s-a dovedit însă un rol în instalarea și întreținerea leziunilor și tulburărilor.

Terapia A.B. rămîne tot o terapie de substituție, prin administrarea de factor extrinsec hematopoetic, vitamina B_{12}. Se ridică unele probleme de profilaxie, în anemiile megaloblastice nutriționale prin tulburări digestive, ca și în gastritele atrofice cu tulburări în resorbția fierului sau chiar cu tulburări parțiale de resorbție a complexului B, în care evoluția ar fi determinată de instalarea unui mecanism autoimun anticelule gastrice și mai ales anti-F.I. În aceste condiții, în unele forme refractare la B_{12}, s-ar putea ca tratamentul cu cortizon să aibă o justificare ; corticoizii ar diminua reacțiile imune generale și locale celulare din mucoasa gastrică, care ar întreține și ar accentua tulburările de tip A.B. Nu este dovedit însă dacă acțiunea cortizonului este de imunosupresie față de producerea de Ac sau este vorba de un efect trofic de regenerare a mucoasei gastrice cu revenirea secreției F.C. (Jeffries și colab., 1966).

D. LEZIUNI OCULARE DE NATURĂ ALERGICĂ ȘI AUTOALERGICĂ

ȘT. BERCEANU

Din punct de vedere al participării mecanismelor imunoalergice, afecțiunile oculare ținînd seama de unele cercetări imunooftalmologice recente, se pot împărți în 3 grupe :

1. Afecțiuni oculare determinate și întreținute de *sechestrarea unor agenți infecțioși* ca treponema, bacilul Koch și mai ales toxoplasma ; față de aceștia există modificări morfologice cu infiltrație limfocitară și chiar

producere de Ac locali. Endoftalmiile prin nematoze sînt determinate în primul rînd de evoluţia biologică specială a parazitului larvar şi mai puţin de reacţiile imunologice locale. Evoluţia este cronică cu recăderi şi remisiuni ca şi în celelalte afecţiuni, în special determinate de toxoplasmoză. Infiltraţiile limfocitare exacerbate local se pot însoţi de reacţii generale imune cu I.D.R. pozitive la Ag specifice (Nozik şi O'Connor, 1970). Se susţine chiar posibilitatea trecerii de complexe Ag-Ac în circulaţia generală printr-o permeabilitate crescută a ţesuturilor oculare lezate prin infecţia cronică (Gamble, 1970 ; Jensen şi colab., 1967).

2. *Oftalmii de natură alergică secundară* unor boli imunologice, unele de etiologie virală, apar în cursul dereglărilor imune ce caracterizează aceste boli. Astfel, în sarcoidoza Besnier-Shauman apar leziuni oculare sub formă de keratită, sclerită nodulară, irită granulomatoasă la 44% din cazuri (Woods, 1961).

În sindromul Behçet, leziunile oculare constituie un semn principal. Noi le-am găsit în formele de Behçet ca sindrom idiopatic şi într-un caz de Behçet care s-a dovedit a fi L.E.D. (Berceanu şi colab., 1959).

Forme de oftalmite de origine endogenă cu etiopatogenie mai puţin clară sînt cele din sindromul Reiter, unde natura virotică este mai puţin dovedită decît în oftalmiile care apar rar în afecţiuni prin virusuri herpetice (Witmer şi Iwamoto, 1967) sau prin citomegalovirus, precum şi în adenoviroze şi rubeolă (Aronson, 1968).

În această grupă se includ şi unele uveite de natură şi mai puţin cunoscută ca detaşările hemoragice a zonei maculare, ca şi uveita din sindromul Vogt-Koyanogi-Harada cu asocieri de tulburări de auz, depigmentare, reacţii meningeale ce apare epidemic în unele regiuni.

3. *Oftalmiile autoalergice* sînt cele mai importante ca etiologie autoimună. Ele au fost iniţial clasificate în grupa bolilor autoimune determinate de absenţa toleranţei faţă de Ag sechestrate. Prin structura sa, ochiul poate fi expus la factorii externi traumatici şi inflamator alergici, care determină inflamaţii acute sau cronice de tip anafilactic.

Ţesuturile oculare cu structură şi dezvoltare embriologică specială pot să fie atinse de procese imunologice de hipersensibilizare şi autoimunizare. În această situaţie specială sînt tractul uveal şi cristalinul. Tractul uveal este constituit din coroidă (componenta posterioară) şi din procesele ciliare şi irisul (componenta anterioară) ; umoarea apoasă este afectată în genere concomitent cu componenta uveală anterioară. Componentele tractului uveal sînt atinse de procese inflamatorii de natură autoimună ca iridociclita, coroidita şi alterările autoimune ale cristalinului din aşa-numita *endophtalmitis phacoanaphilactica*. Oftalmia simpatică este o uveită a componentelor anterioare.

Patologia imună a afecţiunilor oculare are deci la bază o dispoziţie anatomică specială, precum şi o structură anumită antigenică a membranelor oculare ; la acestea se adaugă posibilitatea genezei locale de Ac, în structurile mezenchimale ale ochiului. Urmărirea reacţiilor *in vivo*, pe cornee, iris şi corpii ciliari, după injecţia de eteroanticorpi în cornee şi camera anterioară (Witner, 1957), arată evoluţia locală inflamator-imună fie cu aglomerare de Lc (reacţii de tip tardiv), fie cu transformare plasmocitară şi apariţia de Ac (reacţii de tip imediat). Formarea Ac locali explică evoluţia leziunilor în ochiul lezat iniţial şi extinderea lor la ochiul opus(oftalmie

simpatică) prin trecerea Ac locali în circulație, chiar dacă nu trec Ag (Collins, 1949; Gear, 1955).

Ag structurilor oculare rămîn sechestrate (pigmentul, cristalinul, umoarea apoasă, Ag din corpii ciliari) în condiții normale, dar pot să devină Ag de autoimunizare în condiții patologice. Mecanismul de autoimunizare este cel cunoscut prin auto-Ag sechestrate ca în tiroidita Hashimoto.

În cristalin, Ag sînt proteine foarte complexe, identificîndu-se pînă la 16 linii de precipitare în analizele imunoelectroforetice (François și Rabaey, 1959). Sînt Ag față de care nu există toleranță și capabile să declanșeze producerea de Ag după trecerea lor în circulație. Experimental însă s-au obținut izo- și autoimunizări numai prin încorporarea lor în adjuvant Freund complet.

Ag structurale ale corneei sînt mult discutate mai ales ca Ag de histocompatibilitate în legătură cu toleranța grefelor de cornee. Încă neidentificate chimic se admite existența unor Ag proprii de organ, probabil în celule și în mucopolizaharidele stromei; acestea ar fi Ag de transplantare, cu putere imunizantă redusă. Insuccesele de grefă sînt în parte determinate de defectele de tehnică și anumite condiții locale ale primitorului, dar și de reacțiile imune ale acestuia față de izoantigenele membranei transplantate (Maumenee, 1960). Deși în condiții experimentale la animalul primitor care a eliminat o grefă de cornee nu apar Ac specifici citopatogeni, efectul de eliminare a grefei poate fi transferat prin leucocite sau fragmente de ganglion limfatic.

Cercetări mai vechi au dovedit capacitatea antigenică imunizantă pentru pigmentul uveal care poate să producă fenomene anafilactice la animal și să determine Ac specifici la om după plăgi penetrante oculare (Elschnig și Woods).

Rezultate pozitive de conferire a unei imunități cu diferite Ag uveale la maimuțe și cobai (Collins, 1953) au fost infirmate de alți autori (Naquin, 1955; Bullington și Waksman, 1958). De remarcat cercetările care dovedesc o înrudire antigenică între țesutul uveal și antigenele mielinice din S.N.C.

În patologia clinică umană trebuie semnalate cîteva afecțiuni în care sînt implicate mecanismele autoimune.

După clasificarea lui Woods, uveitele segmentului anterior — *iridociclitele* — sînt de natură alergică, leziunile fiind inflamatorii negranulomatoase. Coroiditele (segmentul posterior uveal) sînt granulomatoase și în genere de natură microbiană, prin agenți cunoscuți. O reacție imunologică există însă în ambele forme, indiferent dacă Ag sînt sau nu cunoscute. Condițiile de *uveită autoimună* se realizează, așa cum s-a menționat, în oftalmia simpatică care însă este rară. S-a descris o patogenie autoimună într-o serie de asocieri de uveită (iridociclită) cu P.R. mai ales în forma Still-Chauffard la copil (Woods); sînt discutabile apoi mecanismele asocierilor din sindromul Reiter și din spondilita ankilopoetică (Ansel și colab., 1962), precum și din L.E.D., dermatomiozită, sclerodermie. Asocierile dintre uveita negranulomatoasă și infecțiile tractului genital, în special la bărbat, au de asemenea o natură necunoscută, incriminîndu-se o infecție microbiană sau virală concomitentă sau un mecanism comun de autoimunizare. În genere, agentul infecțios în aceste asocieri se identifică rar

(Mackay şi Burnet, 1963), iar starea de autoimunizare s-ar explica prin interferenţa cu clonele interzise.

Un interes particular prezintă *localizările oculare în toxoplasmoză*, cu determinări de corioretinită, în genere bilaterală. După Wilder (1952), toxoplasmoza este o cauză etiologică majoră de uveită. Leziunile sînt locale, exsudative şi infiltrative. În multe cazuri s-a izolat microorganismul din leziuni, iar la 94% din cazuri există o reacţie cutanată tardivă specifică. Tratamentul specific cu daraprim şi sulfotiazină se pare că este mai eficient în asociarea cu corticoterapie, ceea ce pledează pentru natura alergică a leziunilor (Maumenee, 1962). Se poate ca tratamentul cu cortizon să producă aceeaşi remisiune, dovedindu-se, cel puţin în anumite cazuri, că leziunile sînt predominante prin reacţia Ag—Ac (Hogan şi Zimmerman, 1962).

Endophtalmitis phacoanaphilactica este denumirea dată reacţiilor inflamatorii provocate de dezintegrarea substanţei cristalinului în camera anterioară (Coles, 1958). Ea apare ca o oftalmie simpatică, prin lezarea inflamatorie sau traumatică a cristalinului contralateral; de asemenea, în urma unei intervenţii chirurgicale pentru cataractă. Permeabilitatea crescută a membranei cristalinului în procesele inflamatorii locale este suficientă pentru efracţia în sînge a Ag de cristalin. Natura autoimună a leziunilor cristalinului se dovedeşte prin reacţii cutanate pozitive la Ag proteice de cristalin şi prin efectul terapeutic bun al cortizonului. Experimental s-au obţinut leziuni de cataractă prin ser anticristalin (François, 1941; Halbert, 1957).

BIBLIOGRAFIE

Abels J., Bouma W., Jansz A., Woldring M., Baker A., Nieweg H., J. Lab. Clin. Med., 1963 *61*, 893.

Almeida J., Zuckermann A., Taylor P., Waterson A., Microbios., 1969, *2*, 117.

Ansel B., Bywaters E., Lawrence J., Ann. Rheum. Dis., 1962, *21*, 243.

Ardeman S., Chanarin J., Lancet, 1963, *2*, 1 350.

Aronson S., Arch. Ophtalm., 1968, *80*, 235.

Ashurst P., Birt. Med. J., 1968, *1*, 647.

Balş M., Med. Int., 1972, *6*, 705.

Balş M., Bocarnea C., Hagiescu L., Lancet, 1970, *1*, 194.

Bang F., New Engl. J. Med., 1969, *281*, 1 190.

Berceanu Şt., *Probleme de hepatologie*, sub red. V. Runcan, Edit. medicală, Bucureşti, 1964, p. 58.

Berceanu Şt., Sîrbulescu R., Hergot L., Soc. St. Med., Bucureşti, mai 1959.

Blumberg B., Friedlaender J., Woodside A., Sutnick A., London W., Proc. Nat. Acad. Sci., S.U.A., 1969, *62*, 1 108.

Brown W., Butterfield D., Savage D., Tada T., Gut, 1972, *13*, 441.

Bruckner I., Tănăsescu C., *Al II-lea Congres naţional de gastroenterologie*, Bucureşti, 9 — 11 septembrie 1971.

Brzosko W., Modolindki K., Krawczynsky K., Swarska H., Nowoslowski A., J. Infect. Dis., 1971, *123*, 251.

Bullington S., Waksman B., Arch. Ophtalm., 1958, *59*, 435.

Cattan D., Ann. Gastroenterol. Hépatol., 1972, *8*, 459.

Christensen L., Buman H., Allen A., Arch. Ophtalm., 1957, *57*, 90.

Ciobanu V., Med. Int., 1959, *11*, 215,

Ciobanu V., în *Probleme de hepatologie*, sub red. V. Runcan, Edit. medicală, Bucureşti, 1964, p. 317.

Coler R., în *Ocular Allergy*, sub red. F. Theodore şi A. Schlossaman, Williams Wilkins Baltimore, 1958.

Scanned with OKEN Scanner

COLLINS R., Ann. J. Ophtalm., 1949, *32*, 1 687.
COLLINS R., Ann. J. Ophtalm., 1953, *36*, 150.
COMBES B., SHOREY J., BERRERA A., STASTNY P., FUGENBRODT G., HULL A., CARTER N., Lancet, 1971, *2*, 7 718.
CRABE P., *Signification du tissu lymphoïde des muqueuses digestives*, Edit. Arscia, Bruxelles, 1967.
DIVE C., HEREMANS J., Arch. Mal. App. Dig., 1972, *61*, 89.
DOE W., Gut, 1972, *13*, 572.
DONIACH D., ROITT I., TAYLOR K., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 605.
DONIACH D., ROITT I., WALKER J., SHERLOCK S., Clin. Exp. Immun., 1966, *1*, 237.
DOUGLAS A., CRABBÉ P., HOBBS J., Gastroenterology, 1970, *59*, 414.
ELSCHNIG A., Arch. für Ophtalm., 1910, *76*, 509.
FODOR O., BARBARINO F., NICOARĂ GH., PĂRĂU N., *Hepatita cronică*, Edit. Academiei, București, 1970.
FODOR O., NICOARĂ GH., St. cerc. med. int., 1969, *10*, 287.
FRANÇOIS J., *L' influence des facteurs immunologiques sur la production des opacités crystaliniennes congénitales*, Imprimerie Médicale et Scientifique, 1941, Bruxelles.
FRANÇOIS J., RABAEY M., Arch. Ophtalm., 1959, *62*, 991.
GAMBLE C., ARONSON S., BRESCIA F., Arch. Ophtalm., 1970, *84*, 321.
GAYDUSEK D., Arch. Int. Med., 1958, *101*, 9.
GEAR J., Acta Med. Scand., 1955, *152*, suppl. 306.
GEFFROY Y., COLIN R., HECKETSWEILER P., *Treatment of small bowel diseases*, sub red. J. DELMONT, Karger Publ., Basel, 1973, p. 53.
GELERNT I., PRESENT D., JANOWITZ, Gut, 1972, *13*, 21.
GROB P., JEMELKA H., Lancet, 771, *1*, 206.
GUARDIA J. MARTINEZ-VASQUEZ J., MARSAL J., FERRAGUT A., BACARDI R., Nouv. Presse Méd., 1972, *1*, 275.
HALBERT S., LOCATCHER-KHORAZO D., SZICK L., WITMER R., FITZGERALD P., J. Exp. Med., 1957, *105*, 439.
HOBBS J.. HEPNER G., Lancet, 1968, *1*, 217.
HOGAN M., ZIMMERMANN L., *Ophtalmic Pathology*, ed. a 2-a, Saunders, Philadelphia, 1962.
HOLMAN H., TOMASI T., Med. Clin. Amer,. 1960, *44*, 633.
HUGHES T. P., J. Immunol., 1933, *25*, 275.
ILIESCU N., BERCEANU ȘT., RADU I., HERGOT L., Arch Roum. Path. Exper. Microbiol., 1963, *22*, 41.
ILIESCU M., BERCEANU ȘT., RADU I., RĂDULESCU E., Arch. Roum. Path. Exper. Microbiol., 1962, *21*, 833.
IRVINE W., DAVIES S., TEITEBAUM S., DELAMORE I., WILLIAMS A., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 657.
JAHIEL R., KIFFLER D., Brit. J. Exp. Path, 1961, *42*, 338.
JEFERIES G., TODD J., SLEISENGER M., J. Clin. Invest., 1966, *45*, 803.
JENSEN P., POLLYCOUE M., ARONSON S., YAMANOTO E., Arch. Ophtalm., 1967, *77*, 814.
JOHNSON G., HOLBOROW E., GLYNN L., Lancet, 1965, *2*, 878.
JONES E., Gut, 1972, *13*, 825.
KRAFT S., KIRSNER J., Gastroenterology, 1971, *60*, 922.
LILIBRIDGE C., BRANDBORG L., RUBIN C., Gastroenterology, 1966, *52*, 792.
MARTIN F., Gastroenterology 1972, *63*, 6.
MAUNENEE A., în *The transparency of the cornea*, sub red. S. DUKE-ELDER, Blackwell Publ., Oxford, 1960.
MAUMENEE A., *Toxoplasmosis with special reference to uveitis*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1962.
MCINTYRE O., SULLIVAN L., JEFFRIES G., SILVER R., New Engl. J. Med., 1965, *272*, 981.
MCKAY I., în *Immunological diseases*, sub red. M. SAMTER, Little and Brown, Boston, 1971, p. 1 323.
MCKAY I., BURNET F., *Autoimmune diseases*. Ch. Thomas, Publ. Springfield, 1963.
MCKAY I., WOOD J., *Progress in liver diseases*, sub red. H. POPPER și F. SCHAFFNER, Grune and Stratton Publ., New York, 1971, p. 39.
MCLAURIN I., COOKE W., LING N., Gut, 1972, *13*, 614.
NAQUIN H., Ann. J. Ophtalm., 1955, *39*, 196.
NOZIK R., O'CONNOR G., Arch. Ophtalm., 1970, *83*, 724.
PARONETTO F., SCHAFFNER F., POPPER H., J. Lab. Clin. Med., 1967, *69*, 979.
PEMBERTON P., Amer. J. Dig. Dis., 1972, *17*, 851.
POPPER H., PARONETTO F., SCHAFFENR F., Ann N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 781.

Scanned with OKEN Scanner

Rambaud J., Arch. Mal. App. Dig., 1972, *61*, 586.
Roitt I., Doniach D., Shapland C., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 644.
Samloff I., Kleinmann M., Turner M., Sobel M., Jeffries G., Gastroenterology, 1968, *55*, 575.
Schwartz M., Lancet, 1960, *2*, 1 236.
Sherman D., Parkin D., McClelland D., Gut, 1972, *13*, 483.
Sherlock S., Amer. J. Med., 1970, *49*, 693.
Shiner M., Shemerling D., Digestion, 1972, *5*, 69.
Shorter R., Huizenga K., Spencer R., Guy S., Amer. J. Dig. Dis., 1972, *17*, 689.
Simionescu L., în *Endocrinologie clinică*, sub red. Șt. M. Milcu, Edit. medicală, București, 1967, p. 996.
Taylor R., Transplant. Rev., 1969, *1*, 114.
Taylor K., Roitt I., Doniach D., Cauchman K., Shapland C., Brit. Med. J., 1962, *2*, 1 347.
Tomasi T., *Immunological diseases*, sub red. M. Samter, Little and Brown, Boston, 1965, p. 88.
Vogel L., Antony P., Sadikali F., Barker L., Patterson M., J. Nat. Cancer Inst., 1972, *48*, 1 583.
Weir P., Holborow E., Johnson G., Brit. Med. J., 1961, *1*, 933.
Wiedermann G., Miescher P., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, *124*, 807.
Wilder N., Arch. Ophtalm., 1952, *48*, 127.
Witebsky F., Milgram F., Immunology, 1962, *5*, 67.
Witmer R., Ophtalmologica, 1957, *133*, 327.
Witmer R., Iwamoto T., Arch. Ophtalm., 1967, *79*, 331.
Wittingham S., Mackay I., Irwin J., Lancet, 1966, *1*, 1 333.
Woods A., Ann. J. Ophtalm., 1947, *30*, 257.
Woods A., *Endogenous inflammations of the uveal tract*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1961.
Woods A., Abrahams I., Amer. J. Ophtalm., 1961, *51*, 761.

Scanned with OKEN Scanner

19. IMPLICAȚII IMUNOLOGICE ÎN BOALA CANCEROASĂ

MARIANA GOCIU

Problema imunologiei tumorale, deşi pusă în discuţie încă de la începutul secolului actual, a căpătat o bază ştiinţifică de cercetare în ultimii 20 de ani, în prezent trecîndu-se de la faza strict experimentală la cea clinică, aplicativă.

Pornind de la observaţiile asupra regresiunilor spontane ale unor tumori maligne bine constituite şi diagnosticate, s-a ajuns la ipoteza conform căreia organismul poate reacţiona faţă de celulele maligne ca faţă de un „nonself", declanşînd mecanisme imune de distrugere a tumorii. Pentru susţinerea acestei ipoteze trebuia demonstrată existenţa unei modificări structurale, cu implicaţii antigenice ale celulei tumorale, şi producerea unei reacţii de apărare a organismului gazdă.

Cele mai multe date cunoscute astăzi sînt rezultatul lucrărilor experimentale pe neoplasme produse de factori cunoscuţi, chimici sau virotici. Hotărîtoare în aceste experimente a fost crearea de linii de animale pure („inbred", „genetic uniforme") care au permis identificarea apariţiei de noi antigene în celulele tumorale, prin metode de transplantare (cap. 8). La animalele identice din punct de vedere genetic, reacţiile faţă de celulele tumorale sînt generate de prezenţa unor noi antigene : „tumorale specifice".

A. ANTIGENE TUMORALE

Antigenele tumorilor induse chimic. Experienţele lui Foley (1953) şi Prehn şi Main (1957) au demonstrat producerea unor reacţii imune faţă de sarcoamele produse prin metilcolantren. Klein şi colab. (1960) precizează că fenomenele imune induse de tumoarea primară nu derivă dintr-o eterogenitate genetică a animalelor, ci sînt legate de prezenţa de antigene tumorale. Şi tumorile produse de alte substanţe ca dibenzantracen, dibenzpiren, benzpiren s-au demonstrat a avea proprietăţi antigenice. S-a emis ipoteza că neoantigenele ar fi produse ale unor gene alterate sau expresia fenotipică a unor gene normale active numai în perioada embrionară, derepresate ca o consecinţă a malignizării (Prehn, 1967).

Pentru antigenele tumorale produse prin carcinogene chimice s-a demonstrat o specificitate de tumoare. Nu există imunitate încrucişată faţă de tumori produse de carcinogene diferite, nici între două tumori produse de aceeaşi substanţă, chiar pe acelaşi animal. Carcinogenul nu intră în compoziţia antigenului tumoral specific (Prehn, 1967).

Antigenele tumoral specifice apar în neoformaţiunile induse chimic încă din fazele incipiente, premaligne, dar în cantităţi mici (Lappé, 1971).

Scanned with OKEN Scanner

S-a ridicat problema dacă carcinogenul chimic nu ar activa un virus tumorigen. Prezenţa unor antigene distincte în fiecare tumoare au infirmat această ipoteză. Totuşi, în ultimii ani s-a evidenţiat la animalele cu sarcoame produse prin metilcolantren, prezenţa virusului Gross, vizualizat şi prin microscopie electronică (Boyse şi colab., 1967). Ar putea fi vorba de un virus transmis vertical la care animalul este tolerant şi care nu joacă un rol în producerea acestor tumori.

Antigenele tumorilor induse prin virusuri au o specificitate de agent : celulele transformate de un virus, indiferent de specie sau de ţesutul afectat, au modificări antigenice similare. Oncogeneza virală, antigenicitatea virusurilor şi a celulelor transformate au fost studiate intens în ultimii ani. Virusurile capabile de a produce transformarea malignă a celulelor normale, *in vivo* sau *in vitro*, se împart în două categorii : virusurile DNA şi RNA.

Neoantigenele care apar într-o celulă malignizată de un agent viral pot fi legate de structura virală (antigene virale) sau sînt de natură celulară. Acestea din urmă, la rîndul lor, sînt induse tot de către virus, fie printr-o derepresiune a unor gene celulare normale, fie prin încorporarea genomului viral în cel al celulei transformate, această ultimă ipoteză fiind cea general admisă în prezent.

Antigenele virale sînt alcătuite din componente din structura virusurilor mature care pot exista în celulele transformate malign sub formă de virus complet, sub formă incompletă (virion) sau ca entităţi moleculare. Antigenele virale (structurale) pot exista atît în celulele transformate de virusurile RNA, cît şi în tumorile induse prin virusuri DNA.

Antigenele celulare au fost demonstrate în celulele tumorilor induse prin virusuri DNA (polioma, virusul simian 40 (SV40), adenovirusuri 3,7, 12, 18, 31). Ele sînt localizate la nivelul membranei celulare (antigen de transplantare) şi în interiorul celulei, mai precis în nucleu (antigenul T : tumoral).

Antigenele de suprafaţă (de transplantare) pot fi demonstrate atît în tumorile produse *in vivo*, cît şi în celulele transformate *in vitro* (Black şi colab., 1963). Induce un răspuns imun atît umoral, cît şi celular. Nu se ştie dacă cele două tipuri de răspunsuri imune sînt generate de un singur antigen sau avem de-a face cu două antigene de suprafaţă. Recent s-a reuşit să se demonstreze prezenţa unor antigene de transplantare, nelegate de structura virală şi în unele tumori induse de virusuri RNA (Morton şi colab., 1969).

Structura chimică a antigenelor de transplantare nu este cunoscută, dar se crede că ar avea o constituţie asemănătoare cu antigenele de histocompatibilitate, probabil o lipoproteină (Habel, 1969).

Antigenul T (tumoral) a fost pus în evidenţă la nivelul nucleului celulelor neoplazice şi specificitatea lui, ca şi cea a antigenului de suprafaţă, este legată de virus şi nu de celulă. Structura chimică nu a fost determinată, dar sinteza acestui antigen pare a fi dependentă de structura RNA nuclear, susceptibilă modificării în cursul includerii virionilor în patrimoniul genetic al celulei.

Uneori, antigenicitatea unor celule tumorale produse de virusuri RNA este greu de demonstrat din cauză că infecţia se transmite vertical de la mamă la făt, fie direct în viaţa intrauterină, fie prin lapte, la nounăscut. În această ultimă categorie intră cancerul mamar produs de

virusul Bittner. Totuși, prin crearea unor animale hibride, fără virus, s-a putut determina capacitatea antigenică a acestor tumori care conțin un antigen specific de tumoare, la fel cu cel determinat în neoplaziile induse chimic (Morton și colab., 1969).

În studiul antigenelor leucemiilor și tumorilor experimentale s-a observat fenomenul de „conversiune antigenică": apariția unui nou antigen celular specific legat de o suprainfecție virală. Astfel, celule de leucemie Gross, prin treceri pe animalele cu virus Rauscher, capătă antigen FMR. Aceasta arată că infectarea cu un virus nu împiedică o reinfectare cu un al doilea virus leucemic.

S-a ridicat problema legăturii dintre neoantigenele celulare apărute după infecția virală și oncogeneză. În sensul cel mai strict, neoantigenele nu sînt caracteristice celulelor tumorale, unele dintre ele fiind prezente și în celule nemaligne infectate sau chiar în celule normale. Din aceste cauze, pînă în prezent, nu s-a putut trage o concluzie definitivă asupra relației dintre producerea de neoantigene și fenomenul de cancerizare.

Antigenele tumorale umane. Existența unei reacții imune antitumorale la om a fost sugerată de unele regresiuni spontane de cancere (Everson și Cole, 1966). Ulterior, cercetări efectuate cu diferite metode imunologice au început să pună în evidență prezența unor antigene specifice pentru unele forme de neoplazii.

Într-o serie de lucrări bine documentate, Gold și colab. (1965), Freedman și colab. (1969) au demonstrat prezența unor antigene specifice în cancerul de colon. Se pare că toate neoplaziile sistemului digestiv derivat din endoderm conțin aceste antigene. Ele nu au putut fi puse în evidență în nici un țesut normal adult, dar sînt prezente în țesutul endodermal embrionar. Din această cauză, autorii le-au numit antigene carcinoembrionare. Din punct de vedere chimic ele sînt complexe proteine — polizaharide, iar prin metoda imunfluorescenței au fost localizate în membrana celulară. Avînd în vedere existența unor antigene comune în colonul fetal și în cancerul de colon, autorii conchid că în celulele maligne, antigenele embrionare apar printr-un proces de derepresie-dediferențiere (Gold și colab., 1965).

Recent s-a pus în evidență, prin metode radioimune, prezența de antigene carcinoembrionare și în sîngele circulant al bolnavilor, fapt important pentru diagnosticul precoce al acestei afecțiuni și pentru depistarea refacerii tumorii după exereză chirurgicală (Klein și Oettgen, 1970).

În afară de aceste antigene carcinoembrionare, s-au mai pus în evidență în tumori încă două antigene fetale. Antigenul α fetoproteină detectat în sîngele mai multor bolnavi cu hepatoame și de la unii pacienți cu carcinoame embrionare. Nu este prezent în cancerul de căi biliare, în metastazele hepatice de la tumori cu alte localizări și nici în bolile hepatice nemaligne.

Antigenul γ fetoproteină a fost decelat recent într-o serie de tumori maligne, dar se întîlnește și într-o mare varietate de tumori benigne. Anticorpi față de acest antigen uu au fost puși în evidență decît la bolnavii cu tumori maligne (Klein și Oettgen, 1970).

Utilizînd metoda inhibării coloniilor, Hellström și colab. (1968) au demonstrat existența unor antigene specifice în diferite forme de cancer.

Scanned with OKEN Scanner

Recent, acești autori (1971) au găsit antigenicități încrucișate între tumori de același tip histologic : la melanomul malign, în cancerele de colon, sîn, testicul, endometru, ovar, precum și în diferite sarcoame. Limfocitele care inhibă creșterea unor anumite celule tumorale nu au nici un efect asupra celulelor normale de la același bolnav, după cum nu influențează nici creșterea altor tipuri de cancere.

Jehn și colab. (1970), întrebuințînd testul de transformare blastică a limfocitelor (cap. 6) în prezența extractului de celule neoplazice, constată existența în melanomul malign a unei substanțe cu proprietate blastogenetică, care migrează cu β-globulina și este diferită de melanină. În afară de acest antigen comun, în melanomul malign există însă și antigene individual specifice, fapt care trebuie luat în considerație în cadrul imunoterapiei : imunizarea cu tumoare proprie este mai eficace decît cea cu celule maligne de la alt bolnav. Wood și Morton (1970) găsesc un antigen comun prezent pe suprafața celulelor de sarcoame umane.

Spre deosebire de tumorile experimentale care prezintă o comunitate antigenică legată de factorul etiologic (viral), tumorile umane au antigene cu reactivitate încrucișată în cadrul aceluiași tip histologic. Pentru a explica aceste date, Hellström și colab. (1971) admit ideea unei derepresiuni genetice, legată de o eventuală infecție virală, dar care pînă în prezent nu a putut fi demonstrată.

În domeniul proliferărilor sistemului reticulohistiocitar și mielopoetic, datele cele mai concludente au fost obținute în tumoarea Burkitt, deoarece boala pare a fi asociată cu virusul Epstein-Barr. Această tumoare prezintă regresiuni spontane și răspunsuri neașteptat de bune la chimioterapie. Într-o conferință internațională, care a avut loc la New York în anul 1969, Klein și Oettgen (1970) au arătat că limfoamele Burkitt sînt asociate cu prezența a cel puțin 3 sisteme antigenice diferite.

Prin studii de imunfluorescență s-a demonstrat că celulele de limfom Burkitt sînt îmbrăcate de IgM și IgG, singure sau asociate. Diferențele dintre aceste celule nu sînt numai de specificitate de clasă, dar și de evoluție de boală (Klein, 1971). Celulele îmbrăcate în IgM nu-și pierd acest înveliș în culturile pe termen lung și nu variază la același bolnav în cursul evoluției bolii. Se pare că o parte din aceste globuline, cel puțin subunitățile 7 S, prin lanțurile K și μ (cap. 4) sînt integrate în membrana celulară, denotînd poate o producere a lor intracelulară. Celulele îmbrăcate în globuline IgG apar după tratament, la recăderi, legate poate de formarea unor celule tetraploide, imunorezistente. S-ar putea să fie vorba de anticorpi „blocanți" cu rol în potențarea de creștere tumorală (Hellström și colab., 1969).

Relația etiologică dintre virusul Epstein-Barr și limfomul Burkitt este însă greu de stabilit. S-a demonstrat prezența de anticorpi antivirus Epstein-Barr la un procent mare din populația normală, este drept într-un titru scăzut (1/10). Titruri mari au fost constant găsite la bolnavii cu cancer nazofaringian. Acest virus pare să fie și factorul etiologic al mononucleozei infecțioase. De aceea, pînă în prezent nu se poate afirma cu precizie dacă virusul Epstein-Barr constituie factorul etiologic al limfomului Burkitt și al cancerului nazofaringian sau este un virus de asociere care a dat naștere la o „conversiune imună", cu producere de antigene virale, într-o celulă malignizată prin alt mecanism.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările efectuate pe celule leucemice umane (Berceanu şi colab., 1966; Doré şi colab., 1967) au arătat şi aici existenţa unei modificări de antigenicitate. Doré (1967), testînd serul bolnavilor de leucemii acute faţă de celule leucemice autologe, prin fixare de complement, imunaderenţă şi citotoxicitate, găseşte la 10—20% din cazuri o reacţie imună pozitivă. Berceanu şi colab. (1966), folosind seruri antileucocitare preparate pe iepuri şi efectuînd reacţii de fixare de complement şi aglutinare pasivă Boyden, au observat că leucocitele din leucemia mieloidă cronică posedă un antigen comun cu leucocitul normal şi mieloblast. Elementele tinere din leucemiile acute mieloblastice sînt slab imunizante, dar par a prezenta un antigen specific, antiserul faţă de aceste celule nereacţionînd cu alte celule normale sau patologice.

B. RELAȚIILE GAZDĂ — TUMOARE

Reacţiile imune ale gazdei faţă de tumoare sînt direct legate de capacitatea reactivă imun generală a organismului. Old şi colab. (1961) au găsit că tumorile imunogene, respectiv cele induse prin metilcolantren şi benzpiren, produc o creştere a activităţii acestui sistem asemănătoare cu cea indusă de vaccinarea cu BCG. Pe de altă parte, stimularea nespecifică a sistemului reticulo-histiocitar cu acid oleic sau BCG întîrzie apariţia de tumori mamare la suşe de animale cu mare incidenţă a acestor neoplasme. Lurie (1964) demonstrează, pe suşe de iepuri ce dezvoltă spontan cancer uterin, că animalele rezistente la infecţia tuberculoasă prezintă mai rar neoplazii decît cele sensibile.

În ultimii ani, Burnet (1971) a introdus noţiunea de „supraveghere imună", prin care înţelege continua eliminare a clonelor de celule neoplazice în stare născîndă, printr-un proces de recunoaştere imună. Dezvoltarea tumorii necesită ruperea acestei supravegheri prin diferite mecanisme, care însă la ora actuală sînt încă ipoteze.

Organismul gazdă reacţionează faţă de ţesutul tumoral prin cele două mecanisme imune cunoscute: răspuns umoral anticorpic şi răspuns celular. Importanţa lor în lupta organismului faţă de tumoare este însă deosebită.

Imunitatea umorală. Prezenţa anticorpilor antitumorali în sîngele periferic a fost pusă în evidenţă în numeroase tumori spontane sau induse, primare sau transplantate. Rolul lor în inhibarea sau distrugerea tumorală variază însă după tipul neoplaziilor. Anticorpii specifici sînt activi în distrugerea celulelor leucemice sau sarcomatoase induse prin virusuri RNA. Spre deosebire de acestea, în tumorile induse prin virusuri DNA sau prin carcinogene chimice, anticorpii fie că nu au nici o acţiune, fie că produc o potenţare a creşterii.

Capacitatea citotoxică a anticorpilor ar fi legată de trei variabile: cantitatea de antigen specific de suprafaţă (antigen de transplantare), tipul de imunoglobuline incitat de răspunsul imun şi accesibilitatea anticorpilor şi a complementului la antigenele celulare de suprafaţă.

Mecanismul prin care anticorpii antitumorali distrug celula-ţintă nu este încă suficient studiat. Anticorpii de tip IgM par a avea o acţiune

Scanned with OKEN Scanner

litică mai puternică, favorizînd mai activ pătrunderea complementului în celula-țintă.

Într-un mare număr de cazuri de tumori umane au fost puși în evidență în sîngele bolnavilor prezența de anticorpi antitumorali. Au fost descriși asemenea anticorpi citotoxici în neuroblastoame (Hellström și colab., 1969), cancere de colon (Hellström și colab., 1968), melanoame (Lewis și colab., 1969), sarcoame (Wood și colab., 1970). De remarcat că s-au găsit anticorpi citotoxici la 70% din bolnavii cu sarcoame, dar și la 58% din membrii familiilor acestor bolnavi, care ei înșiși nu prezentau nici un simptom de boală (Wood și colab., 1970).

În unele cazuri de melanoame, sarcoame sau neuroblastoame, anticorpii cu caracter citotoxic au fost găsiți în circulație numai după extirparea tumorii sau regresiunea ei (Lewis și colab., 1969). Este greu de demonstrat rolul lor *in vivo*, dar probabil, după îndepărtarea marei mase tumorale, ei apar în circulație, putînd avea un rol în prevenirea micrometastazelor.

Imunitatea celulară. Reacția de apărare a gazdei față de tumoare este predominant de natură celulară (cap. 8), asemănătoare cu cea antigrefă (Alexander și colab., 1967). Adăugarea de limfocite sensibilizate la celule neoplazice-țintă inhibă capacitatea proliferativă *in vivo* a acestora (Klein și colab., 1960). De asemenea, imunitatea antitumorală poate fi transferată prin limfocite sau prin celule peritoneale de la animale sensibilizate la animale normale (Old și colab., 1963).

Cercetările efectuate *in vitro* și *in vivo* au demonstrat că rolul principal în imunitatea celulară revine limfocitului (Gershon și Kondo, 1969; Hellström și colab.). Teoretic, pentru distrugerea celulelor tumorale de către limfocite sensibilizate specific este necesar o proporție de 1/1. În practică, această proporție este greu de stabilit, deoarece nu se poate determina cantitatea de limfocite sensibilizate. Limfocitul sensibilizat se atașează specific de celula tumorală-țintă și apoi o lizează. Primul timp este un fenomen imun, de recunoaștere specifică, cel de-al doilea însă nu, pentru că s-a dovedit că limfocite normale pot distruge celule tumorale dacă au fost atașate nespecific prin fitohemaglutinine sau prin anticorpi antiimunoglobulinici (Holm și Perlmann, 1967). Distrugerea celulară pare a fi legată de incompatibilitatea de suprafață. Sînt autori care susțin că limfocitul poate juca un rol în distrugerea celulelor-țintă de către complement: antiserul anti—C'8 inhibă acțiunea litică a limfocitului (Klein și Oettgen, 1970).

Prin interacțiunea dintre limfocitele sensibilizate și celulele tumorale-țintă se eliberează un factor cu proprietate inhibantă asupra migrării fagocitelor (cap. 2 și 7).

Cercetări experimentale au arătat că sensibilitatea antitumorală poate fi transferată nu numai prin limfocite sensibilizate, dar și prin RNA extras din aceste limfocite (Pilch și colab., 1971).

Se discută mult în prezent de relația macrofag — limfocit în dezvoltarea proceselor imune, precum și influența limfocitelor asupra granulocitelor în fenomenul de fagocitoză și bactericidie (cap. 9 — 10). Hibberd și Metcalf (1971) descriu la șoareci cu tumori primare sau transplantate o creștere a numărului precursorilor de macrofage și granulocite la nivelul măduvei osoase și în splină. Autorii cred că proliferarea acestor precursori

ar putea reprezenta un component important al răspunsului imun față de antigenele tumorale. Macrofagele de la animalele sensibilizate specific au capacitatea de a distruge celulele sarcomatoase; iar macrofagele animalelor infectate cu diferite protozoare au proprietăți inhibante asupra celulelor tumorale *in vitro*. De asemenea, mastocitele par a juca un rol important în distrugerea celulelor malignizate, proliferarea și degranularea lor putînd fi declanșate de procesul imun antitumoral (Lappé, 1971).

Din punct de vedere morfologic, rejecția tumorii transplantate la un animal imunizat este precedată de apariția unor infiltrate limfocitare masive, iar în ganglionii regionali se constată o hiperplazie de imunoblaști, celule plasmocitare și histiocite. Modificări morfologice asemănătoare pot fi întîlnite și în unele tumori umane, denotînd o reacție imună (Steward, 1969). Infiltrația limfocitară a tumorii și prezența unei reacții reticulare în ganglionii regionali au fost considerate semne de prognoză favorabilă în cancerul de sîn. S-au citat de asemenea cazuri de remisiune spontană în leucemii acute, paralel cu apariția unei plasmocitoze medulare, expresie probabilă a unei reacții imune (Burkett și colab., 1965).

În general, reactivitatea limfocitelor nu pare a varia după stadiul bolii, ea fiind asemănătoare la bolnavii cu tumori evolutive ca și la cei cu remisiune sau cu tumoarea extirpată (Hellström și colab., 1968).

Factori imuni care favorizează creșterea tumorală. Mecanismele imune ale organismului nu au întotdeauna un efect distructiv asupra celulelor neoplazice. Kaliss (1962) a fost primul care a demonstrat că serul imun antigrefă sau anticelulă neoplazică poate avea un efect de potențare a creșterii acestora, așa-numitul fenomen de „enhancement". Ulterior, acest fenomen a fost studiat intens (Möller, 1963; Hellström și colab., 1969; Klein, 1970; Takasugi și Hildemann, 1969). Acțiunea de potențare poate fi mai ușor demonstrată în sistemele experimentale care au o putere antigenică mai slabă, cum ar fi neoplasmele induse chimic sau cele produse de virusuri DNA (polioma, SV 40). Spre deosebire de acestea, tumorile care au cantitate mai mare de antigen de suprafață — limfoamele murine — sînt mai susceptibile la citoliză decît la potențare.

În mecanismul de potențare intervine însă și natura chimică a anticorpilor. Astfel, anticorpii 19 S sînt mai activi în testul de citotoxicitate decît cei 7 S, în prezența complementului. Potențarea imună este produsă în special de anticorpii 7 S (Uhr și Möller, 1968). Din cercetările lui Takasugi și Klein (1971) reiese că atît IgG_1 cît și IgG_2 participă la procesul de potențare, dar IgG_2 sînt mai activi, avînd o afinitate mai mare pentru antigenele tumorale.

Pentru explicarea mecanismului procesului imun de potențare s-au propus mai multe ipoteze (Takasugi și Hildemann, 1969). Anticorpii pot interveni ca inhibitori centrali sau periferici în cadrul inducerii procesului imun. Inhibiția periferică, la rîndul ei, poate fi de două feluri: aferentă sau eferentă. Pînă în prezent s-a demonstrat cu oarecare precizie acțiunea periferică a anticorpilor potențatori: pe de o parte ei învelesc celula-țintă tumorală cu un strat care le protejează de acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate (mecanism eferent), iar pe de altă parte inhibă producerea unui stimul antigenic pentru declanșarea răspunsului imun (mecanism aferent) (Hellström și colab., 1971). Experimental este însă greu de deosebit inhibiția aferentă de cea centrală, așa că mecanismele care inter-

vin în procesul de potențare nu sînt încă complet clarificate. Kaliss (1962) susține însă că anticorpii ar avea și o acțiune directă de exacerbare a creșterii tumorale.

La bolnavii cu diferite forme de cancere s-a pus în evidență în sîngele circulant prezența unor anticorpi „blocanți", care inhibă acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate (Hellström și colab., 1969). Acești anticorpi sînt prezenți la pacienții cu tumori evolutive și dispar în remisiuni sau după exereza tumorii (Hellström și colab., 1971). Se pare că această proprietate blocantă aparține unor complexe alcătuite dintr-un mic fragment de antigen tumoral legat de o moleculă de anticorp antitumoral specific. Acțiunea blocantă se manifestă prin atașarea lor de limfocite prin ligantul antigenic. Mai mult decît atît, se poate ca blocarea să fie făcută numai prin antigenele tumorale solubile, prezente în sîngele circulant al bolnavilor. Această ultimă ipoteză ar concorda cu datele clinice, din care reiese că este necesară prezența tumorii în organism pentru demonstrarea acțiunii blocante a serului.

Este încă greu de afirmat dacă există o legătură între anticorpii cu acțiune de potențare și cei blocanți. După datele experimentale se pare că este vorba de două fenomene deosebite, dar care au același rezultat, și anume favorizarea creșterii tumorale *in vivo* și *in vitro*.

Recent s-a arătat că nu numai anticorpii pot avea un efect de potențare, dar și limfocitele. În sisteme de tumori virale cu transmitere verticală (leucemia Gross la șoarecii AKR), limfocitele splenice sensibilizate favorizează creșterea celulelor tumorale autologe *in vitro* (Berceanu, 1971). La om, în culturi de leucemie acută, unele limfocite normale izologe pot potența creșterea celulelor maligne, în timp ce altele o inhibă (Berceanu și Gociu, 1973). Klein J. W. Jr. (1972) a arătat că există o diferență de acțiune între diferitele limfocite ale aceluiași animal față de tumoarea la care a fost imunizat: limfocitele ganglionare au acțiune citotoxică, iar limfocitele splenice inhibă acțiunea citotoxică a primelor. În sprijinul acestor date vin alte lucrări (Gershon și Kondo, 1969) care demonstrează o acțiune favorizantă a splinei asupra creșterii tumorale. Splenectomia, care a început să se practice în prezent în mod curent în boala Hodgkin, în vederea unei stadializări corecte, ar putea avea și o acțiune de potențare a reacției imune antitumorale.

Legat de factorii imuni ce acționează asupra celulelor tumorale este și fenomenul de *selecție imună*. Prin transplantări succesive la animale imune, s-a demonstrat că o celulă tumorală își poate pierde capacitatea antigenică, obținîndu-se astfel tumori care rezistă la mecanismele imune (Klein și colab., 1966). Procesul de imunoselecție poate fi explicat prin ipoteza că într-o tumoare există mai multe clone celulare care variază în ceea ce privește cantitatea de antigene de suprafață. Ca urmare a agresiunilor imune supraviețuiesc numai celulele care au o cantitate mai mică de antigen.

În tumorile umane s-a comunicat un caz de limfom Burkitt, care la o recădere după cîțiva ani de remisiune postterapeutică prezenta în biopsia ganglionară o clonă celulară tetraploidă (Klein, 1971). Celulele tetraploide pot scăpa adesea de reacțiile gazdei, care însă distrug celulele similare diploide.

Scanned with OKEN Scanner

Un alt mecanism imun care contribuie la creşterea tumorilor este *toleranţa imună*, care poate fi definită ca o reducere marcată sau lipsa răspunsului imun condiţionată de o expunere anterioară la antigenul specific. Această toleranţă imună a fost descrisă la leucemiile cu virus Gross transmis vertical sau în infectarea nou-născutului cu virus prin lapte. Inducerea mai uşoară de tumori cu virusuri DNA la şoareci nou-născuţi pare a fi mai curînd legată de un decalaj în răspunsurile imune decît de existenţa unei toleranţe. Reacţia anticorpică apare mai repede decît cea celulară, dînd naştere unui fenomen de potenţare (Defendi, 1971).

Toleranţa faţă de tumori poate fi indusă şi la animale mature, prin administrarea de doze mici de antigen, la anumite intervale de timp.

La om, prezenţa unei toleranţe imune este greu de demonstrat, însă ea nu trebuie să fie eliminată. Sînt bine cunoscute familii care prezintă pe mai multe generaţii o susceptibilitate mai mare la neoplazii, fapt ce poate fi legat de existenţa unei astfel de toleranţe.

Un rol important în apariţia şi dezvoltarea tumorilor experimentale îl joacă depresiunea reacţiei imune a organismului. Astfel, timectomia (Gaugus şi colab., 1969), administrarea de ser antilimfocitar sau administrarea de medicamente imunodepresive (Boyse şi colab., 1967) potenţează creşterea tumorilor transplantate şi măreşte frecvenţa neoplasmelor spontane. Refacerea imunităţii prin inoculare de limfocite sensibilizate duce la inhibarea tumorilor transplantate la aceste animale (Allison, 1970). Înşişi agenţii cancerigeni, atît cei chimici (Prehn, 1967), cît şi cei virali (Salaman, 1970), deprimă acţiunea imună a organismului. În cursul leuchemogenezei virale experimentale, Ceglowski (1971) demonstrează o inhibiţie atît a răspunsului imun primar, cît şi a celui secundar.

În patologia umană, aplicarea tratamentelor imunodepresive în transplantele de organe a arătat o creştere a frecvenţei cancerelor. S-au comunicat pînă în prezent cel puţin 52 de cazuri de neoplasme la 5 000 de bolnavi cu transplante renale (Schneck şi Penn, 1971). Cele mai multe dintre aceste neoplazii interesează sistemul limforeticular, fiind reprezentate în special de reticulosarcoame. Raportată pe grupe de vîrstă, creşterea de frecvenţă este înalt semnificativă.

Tot în cadrul bolnavilor cu transplante de organe s-au comunicat 8 cazuri de grefări tumorale de la donor. Întreruperea tratamentului imunodepresiv a avut drept urmare regresiunea tumorii transplantate (Waldemann şi colab., 1972).

La copii cu deficite imune congenitale s-a constatat apariţia unui mare număr de tumori, cele mai multe fiind de asemenea în sistemul limforeticular. Aceste observaţii sînt valabile în special în ataxia teleangiectazică, sindromul Wiskott-Aldrich limfangiectazia intestinală şi în aberaţiile primare ale imunoglobulinelor (Klein şi Oettgen, 1970 ; Waldemann şi colab., 1972).

Foarte discutată este în prezent influenţa pe care unele infecţii cronice, cum ar fi malaria, o pot avea asupra dezvoltării tumorale. S-a constatat că zona de răspîndire a tumorii Burkitt se suprapune zonei de malarie holoendemică (O'Connor, 1970). Infecţia malarică produce o hiperplazie limforeticulară, cu creşterea numărului celulelor limfoide, care reprezintă mediul de elecţie pentru multiplicarea virusului Epstein-Barr.

Scanned with OKEN Scanner

Pe de altă parte însă, se produce şi un grad de imunodepresiune care poate favoriza, la rîndul ei, multiplicarea virusului oncogen (Salaman, 1970).

Din cele expuse reiese că organismul animal dispune de un mecanism de „supraveghere imună" care are drept urmare distrugerea sau îndepărtarea celulelor maligne de la primele începuturi. În anumite cazuri însă, această supraveghere este depăşită, tumoarea prezentînd o creştere progresivă care are drept urmare omorîrea gazdei. În procesul de creştere tumorală pot interveni unul sau mai mulţi factori de favorizare. În patologia umană este greu de precizat care din aceşti factori joacă un rol mai însemnat, fiind necesare studii mai aprofundate pentru cunoaşterea condiţiilor favorizante ale creşterii tumorale.

C. INFLUENŢA NEOPLAZIILOR ASUPRA CAPACITĂŢII IMUNE A ORGANISMULUI

Proliferarea canceroasă la rîndul său produce o scădere a capacităţii imune a organismului gazdă. Depresiunea imună este mai evidentă în neoplaziile sistemului limforeticular.

Aşa-numitele „discrazii plasmocitare", reprezentate în primul rînd prin mielom şi macroglobulinemie Waldenström, se caracterizează prin producerea în cantităţi excesive a unei populaţii molecular omogenă de imunoglobulină, cu inhibiţia formării celorlalte componente globulinice. Aceşti bolnavi prezintă, în general, o formare deficitară de anticorpi, cu creşterea susceptibilităţii la infecţii bacteriene.

Leucemia limfatică cronică, limfo- şi reticulosarcomul dau, pe prim plan, modificările reacţiei imune de tip umoral (Barr şi Fairlay, 1961; Miller, 1971). Sînt scăzute atît răspunsul primar, cît şi cel secundar. Modificările cele mai pregnante se găsesc la bolnavii cu leucemie limfatică cronică. În acest grup de afecţiuni se constată destul de frecvent modificări în sistemul imunoglobulinelor, cu scăderea gammaglobulinelor. Sînt citate de asemenea cazuri de creşteri IgG şi IgM, uneori cu caracter monoclonal. Limfocitele acestor bolnavi prezintă o reactivitate scăzută la fitohemaglutinină, cifrele cele mai scăzute fiind găsite la bolnavii cu leucemie limfatică cronică (Schreck, 1967; Gociu şi colab., 1970). Această scădere a reactivităţii organismului are drept urmare o creştere a procentajului de infecţii, în special cele pulmonare.

Spre deosebire de leucemia limfatică cronică şi limfosarcom, în boala Hodgkin pe prim plan sînt tulburările de imunitate celulară.

Este bine cunoscut că aceşti bolnavi prezintă o rejecţie întîrziată de transplant izolog de piele, iar intradermoreacţiile la tuberculină şi candida negative într-o proporţie mai mare decît la martori (Aisenberg, 1971; Schier, 1954). Pentru a se cerceta capacitatea de imunizare de tip celular s-au efectuat sensibilizări cu dinitriclorbenzen (DNCB). Dacă în formele avansate de boală Hodgkin toţi cercetătorii găsesc o anergie clară, în formele localizate rezultatele sînt discordante: Kaplan şi colab. (1967) comunică o proporţie mare de energici, în timp ce Corder şi colab. (1972) reuşesc să producă în 70% din cazuri un răspuns pozitiv la DNCB. Sokal şi Aungst (1969) vaccinează cu BCG bolnavi cu boală

Hodgkin în stadiile III și IV de evoluție, anergici anterior la PPD. Din 23 de bolnavi, numai 8 nu s-au pozitivat la PPD după vaccinare, restul au reacționat normal.

În boala Hodgkin, răspunsul anticorpic este în general normal, in afară de stadiile terminale cînd este diminuat.

Scăderea reacțiilor imune de tip celular au atras atenția asupra limfocitelor. S-a constatat că o mare proporție de bolnavi cu boală Hodgkin prezintă o scădere a numărului de limfocite circulante, scădere care se accentuează cu evoluția bolii. Reactivitatea acestor limfocite la fitohemaglutinină se modifică după faza de evoluție a afecțiunii. În fazele localizate, transformarea blastică este în limite apropiate de normal, pentru ca în fazele de diseminare reactivitatea limfocitelor să scadă (Corder și colab., 1972; Gociu și colab., 1971). Unii autori (Gociu și colab., 1971) au găsit o corelație între numărul de limfocite periferice, transformarea blastică la fitohemaglutinină și intradermoreacția la tuberculină. Se pune întrebarea dacă modificările imunității de tip celular în boala Hodgkin sînt legate numai de scăderea numărului absolut de limfocite sau este vorba și de o modificare calitativă a acestora. S-a încercat să se facă un transfer de sensibilitate tuberculinică prin celule sanguine de la un subiect cu hipere ergie tuberculinică la un bolnav cu boală Hodgkin și nu s-a reușit (Müftüoglu și colab., 1967). Aceasta, împreună cu modificarea reacției de fitohemaglutinină, susține că există și o modificare intrinsecă a limfocitelor în această afecțiune.

În bolile proliferative ale sistemului reticulohistocitar, în general, și în leucemia limfatică cronică, în special, pot apărea o serie de boli imune reprezentate prin anemii hemolitice autoimune, cu test Coombs pozitiv, precum și cu anticorpi la cald și la rece. De asemenea pot apărea trombocitopenii autoimune.

S-au comunicat asocieri de boli maligne ale sistemului limforeticular cu boli de colagen, în proporții mai mari decît în populația obișnuită.

Paralel cu tulburările de imunitate apărute în această categorie de boli, se constată o creștere a frecvenței apariției unor noi neoplazii maligne. În cazuistica Institutului de medicină internă, din 274 bolnavi cu limfoame maligne, 7 au dezvoltat o neoplazie secundară, deci o proporție de 2,5%.

Scăderea reacțiilor imune de tip umoral și celular au fost demonstrate și alte neoplazii decît cele ale sistemului reticulohistocitar. Studiind reacțiile cutanate la PPD pe 103 bolnavi cu diferite forme de cancere, Schneider (1969) găsește negativarea lor la 49,5% din pacienți. Trebuie ținut seama că la toți bolnavii cu afecțiuni neoplazice în scăderea reacțiilor de apărare un rol foarte important îl joacă și terapia specifică, puternic imunodepresivă.

D. IMUNOTERAPIA ANTICANCEROASĂ

Plecînd de la constatarea unei antigenicități tumorale specifice și a existenței unei reacții gazdă contra tumoare, s-au încercat, experimental și clinic, numeroase metode de tratament imun. Menționăm că în acest domeniu școala românească de oncologie a comunicat unele rezultate

interesante (Costăchel şi colab., 1971). Trebuie specificat că nici o reacţie imună nu dă rezultate bune într-o tumoare bine dezvoltată. Reacţiile imune nu acţionează efectiv decît pe un număr mic de celule neoplazice, număr care probabil variază de la tumoare la tumoare. Din această cauză, în prezent se vorbeşte numai de o terapie combinată : exereză, iradiere sau substanţe citostatice administrate pînă la obţinerea unei regresiuni cît mai importante a tumorii, urmate de o terapie imună.

În mare, metodele imune de tratament sînt : imunoterapie activă şi imunoterapie adoptivă.

Imunoterapia activă are drept scop mărirea rezistenţei gazdei faţă de tumoare, întrucît este posibil ca o tumoare să nu elibereze o cantitate suficientă de antigene pentru a declanşa o reacţie antitumorală eficientă, sau — la unii bolnavi — anticorpii formaţi să fie blocaţi de antigenele eliberate în mare cantitate de către tumoare.

Excizia chirurgicală, care este tratamentul cel mai utilizat în multe neoplasme umane, poate exercita şi un efect de potenţare imună (Symes, 1970). Scăderea de volum a masei tumorale, precum şi eventuala îndepărtare a unei depresiuni imune produsă de tumoare, favorizează apariţia unei reacţii a gazdei contra neoplaziei.

Alte metode utilizate au fost cele ale imunizării nespecifice şi specifice. Vaccinările cu BCG la animale în perioada de latenţă a unei infecţii cu virus oncogen scade incidenţa apariţiei tumorilor (Sjögren şi Ankerst, 1969). Mathé şi colab. (1967, 1968) au efectuat vaccinări cu BCG la bolnavi cu leucemie acută limfoblastică în remisiune, obţinînd la unii bolnavi o întîrziere a recăderii. Paralel, la alt lot de bolnavi cu leucemie limfoblastică acută în remisiune s-a administrat un amestec de leucocite umane leucemice inactivate prin raze X sau prin formol, obţinîndu-se un procentaj asemănător de prelungire a remisiunilor, autorii neputînd face o diferenţiere între eficacitatea tratamentului imun specific şi nespecific. Această terapie însă nu este lipsită de riscuri. Cazurile de recăderi din acest lot (40%) au prezentat o durată medie de remisiune de 25 de zile, faţă de lotul martor care a avut o durată medie de 70 de zile. Deci, tratamentul imunologic ar putea da şi unele fenomene de facilitare. Cercetările experimentale efectuate de Amiel şi Bérardet (1969) au arătat necesitatea secvenţializării citostatic-imunoterapie şi nu invers, deoarece administrarea de BCG sau de celule leucemice înainte de citostatic poate avea efecte dăunătoare asupra evoluţiei bolii.

Şi în alte forme de neoplasme s-au încercat vaccinări cu diferite preparate (celule tumorale proprii iradiate, omogenizate, extrase de tumoare conjugate cu proteine străine), dar rezultatele obţinute nu au fost convingătoare. Trebuie ţinut seama că imunizarea activă poate induce mai curînd o potenţare decît o inhibare a creşterii tumorale (Fefer, 1971).

Imunoterapia adoptivă. În acest cadru trebuie amintit seroterapia pasivă, care, cel puţin la om, a dat rezultate slabe. S-au comunicat cîteva scăderi tumorale în melanoame maligne prin administrarea de ser de la bolnavi în remisiuni complete (Everson şi colab., 1966).

Avînd în vedere că în distrugerea celulelor neoplazice imunitatea celulară joacă un rol major, transferul de limfocite sensibilizate pare să aibă o bază ştiinţifică. Practic însă, grefele de măduvă osoasă, transfuziile de leucocite totale sau de limfocite normale sau sensibilizate au dat, la

Scanned with OKEN Scanner

om, rezultate discutabile. Mai mult decît atît, la unii bolnavi din acest lot s-au observat recăderi la un interval foarte scurt de timp. Recent s-a arătat că se poate produce o leucemizare a limfocitelor normale introduse în scop terapeutic (Fialkow și colab., 1971). S-a încercat perfuzarea de limfocite alogenice sensibilizate la bolnavi cu diferite neoplasme inoperabile (Symes și colab., 1968). S-au observat discrete ameliorări subiective și necrozări în unele mase tumorale. De asemenea, tot în astfel de cazuri, s-a făcut terapie adoptivă cu limfocite xenogenice.

Ca urmare a cercetărilor lui Hellström și colab. (1971), care demonstrează că practic limfocitele oricărui bolnav cu cancer sînt sensibilizate la propria tumoră, este de încercat reintroducerea de limfocite autologe după aplicarea unui tratament tumoricid (Fefer, 1971). Limfocitele izologe sînt mai dificil de utilizat avînd în vedere că pot da și efecte de potențare.

Cercetările din domeniul imunologiei tumorale experimentale și umane au dat pînă în prezent unele date teoretice și practice deosebit de interesante, permițînd o mai bună înțelegere a relațiilor dintre proliferarea malignă și gazdă. Totuși, cunoștințele acumulate pînă în prezent nu permit încă o introducere pe scară largă a tratamentelor imune, avînd în vedere că nu se pot stăpîni bine efectele de potențare care pot apărea.

BIBLIOGRAFIE

Aisenberg C. A., în *Immunological diseases*, sub red. M. Samter, Edit. Little, Brown and Company, Boston, 1971, vol. I, p. 571.

Alexander P., Fairley G. H., Brit. Med. Bull., 1967, 23, p. 86.

Allison C. A., Proc. royal Soc. Med., 1970, 63, 1 077.

Amiel J. L., Bérardet M., Rev. franc. ét. Clin biol, 1969, 14, 685.

Barr M., Fairlay G. H., Lancet, 1961, vol. i, p. 1 305.

Berceanu Șt., First meeting Europ. Div. Internat. Soc. Haemat., Milano, septembrie 1971, volum abstracte, p 253.

Berceanu Șt., Gociu M., Rev. Roum. Méd. Int., 1973, 2, 75.

Berceanu Șt., Gociu M., Dăncescu I., Răileanu I., Grozea P., *International Congress Internal Medicine*, Amsterdam, 1966, volum abstracte, p. 517.

Black P. H., Rowe W. P., Turner H. C., Huebner R. J., Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.), 1963, 50, 1 148.

Boyse E. A., Old L. J., Oettgen H. F., *Tumor immunology*, în *Textbook of Immunopathology*, Edit. Grune and Stratton, New York, Londra, 1967, vol. II, p. 768.

Burkett L. L., Fields M. L., Diggs L. W., Blood, 1965, vol. XXV, p. 541.

Burnet M. F., Israel J. Med. Sci., 1971, vol. 7, p. 9.

Ceglowski S. W., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1971, vol. 181, p. 272.

Corder P., Young C. R., Brown S. R., De Vita T. V., Blood, 1972, vol. 39, p. 595.

Costăchel O., Iosub A., Guțulescu N., Mogoș I., Liciu F., Arch. Geschwulstforsch., Dresden, 1971, vol. 37, p. 19.

Defendi V., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1971, vol. 181, p. 236.

Doré J. F., Motta R., Marhulev L., Hrsak J., Colas De La Noue H., Seman G., De Vassal F., Mathé G., Lancet, 1967, vol. 11, p. 1396.

Everson T. C., Cole W. H., *Spontaneous regression of cancer*, Edit. Saunder, Philadelphia, 1966.

Fefer A., în *Current concepts in the management of leukemia and lymphoma*, sub red. J. E. Ultman și colab., Edit. Springer, Berlin — Heidelberg — New York, 1971, p. 182.

Fialkow J. P., Thomas D. E., Bryant I. J., Neiman E. P., Lancet, 1971, vol. i, p. 251.

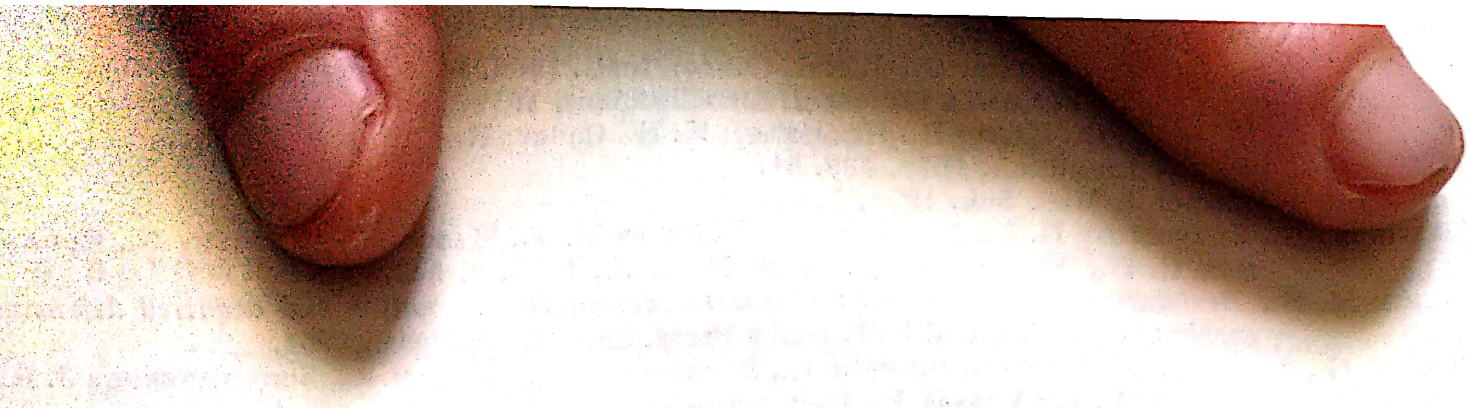
Foley E. J., Cancer Res., 1953, vol. 13, p. 835.

Freedman O. A., Gold P., Krupey J., Machado Da H., *Human tumour antigens*, sub red. J. F. Morgan, în Proc. Eight Canadian Cancer Conf, Pergamon Press, 1969, vol. VIII, p. 407.

Scanned with OKEN Scanner

GAUGUS J. M., CHESTERMAN F. C., HIRSH M. S., REES R. J. W., HARVEY J. J., GILCHRIST' Nature, (London), 1969, vol. 221, p. 1 033.
GERSHON R. K., KONDO K., J. Nat. Cancer Inst., 1969, vol. 43, p. 545.
GOCIU M., RĂILEANU-MOȚOIU I., BERCEANU ȘT., Rev. Roum. Méd. Int., 1970, vol. 7, p. 39.
GOCIU M., RĂILEANU -MOȚOIU I., POPESCU I. GR., BERCEANU ȘT., Rev. Roum. Méd. Int., 1971, *8*, 119.
GOLD P., FREEDMAN O. S., J. Exp. Med., 1965, *122*, 467.
HABEL K., *Tumor antigens*, în Proc. Eighth Canadian Cancer Conf., sub red. J. F. MORGAN, Pergamon Press, 1969, vol. VIII, p. 390.
HELLSTRÖM I., HELLSTRÖM K. E., EVANS C. A., HEPPNER G. H., PIERCE G. E., YANG J.P.S., Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 1969, *62*, 362.
HELLSTRÖM I., HELLSTRÖM K. E., PIERCE G. E., YANG J.P.S., Nature, Londra, 1968, *220*,1 352.
HELLSTRÖM I., HELLSTRÖM K. E., SJÖGREN H. O., Int. J. Cancer, 1971, *8*, 185.
HELLSTRÖM I., HELLSTRÖM K. E., SJÖGREN H. O., WARNER A. G., Int. J. Cancer, 1971, *7*, 1.
HIBBERD D. A., METCALF D., Israel J. Med. Sci., 1971, *7*, 202.
HOLM G., PERLMANN P., J. Exp. Med., 1967, *125*, 721.
JEHN V. U., NATHANSON L., SCHWARTZ S. R., SKINNER M., New Engl. J. Med., 1970, *283*, 329.
KALISS N., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1962, *101*, 64.
KAPLAN H. S., ELTRINGHAM J. R., ROSENBERG S. A., Clin. Res., 1967, *15*, 132 (abstract).
KLEIN G., Fed. Proc., 1969, *28*, 1 739.
KLEIN G., Israel J. Med. Sci., 1971, *7*, 111.
KLEIN G., KLEIN E., HAUGHTON G., J. Nat. Cancer Inst., 1966, *36*, 607.
KLEIN G., OETTGEN F. H., Ca—A Cancer J. for Clinicians, 1970, *20*, 122.
KREIN G., SJÖGREN H. O., KLEIN E., HELISTROM K. E., Cancer Res., 1960, *20*, 1 561.
KLEIN J. W. Jr., J. Immunol., 1972, *109*, 51.
LAPPÉ A. M., Israel J. Med. Sci., 1971, *7*, 52.
LEWIS M. G., IKONOPISOV R. L., NAIRN R. C., PHILLIPS M. T., HAMILTON—FAIRLEY G., BODENHAM C. D., ALEXANDER P., Brit. Med., J., 1969, *3*, 547.
LURIE M. B., *Resistance to tuberculosis: Experimental studies in native and acquired defensive mechanisms*, Harvard University Press, Cambridge Mass., 1964.
MATHÉ G., AMIEL J. L., SCHWARTZENBERG L., SCHNEIDER M., CATTAN A., SCHLUMBERGER J. R., HAYAT M., DE VASSAL F., Rev. franc. ét. Clin. Biol., 1968, *13* , 454.
MATHÉ G., SCHWARTZENBERG L., AMIEL J. L., Rev. franc, Hématol., 1967, *7*, 721.
MILLER G. D., în *Immunological diseases*, sub red. M. SAMTER, Edit. Little Brown and Company, Boston, 1971, vol. I, p. 548.
MOLLER G., J. Nat. Cancer Inst., 1963, *30*, 1 205.
MORTON D. L., MILLER G. F., WOOD D. A., J. Nat. Cancer Inst., 1969, *42*, 289.
MÜFTÜOGLU A. U., BALKUV S., New Engl. J. Med., 1967, *277*, 126.
O'CONNOR G. T., Am. J. Med., 1970, *48*, 279.
OLD L. J., BENACERRAF B., CLARKE D. A., CARSWELL E., STOCKERT E., Cancer Res., 1961, *21*, 1 281.
OLD L. J., BOYSE E. A., BENNETT B., LILLY F., în *Cell bound antibodies*, sub red. B. AMOS și H. KOPROWSKI, Wistar Inst. Press, Philadelphia, 1963, p. 89.
PILCH H. Y., RAMMING P. K., DECKERS J. P., Israel J. Med. Sci., 1971, *7*, 246.
PREHN R. T., în *Immunity, Cancer and chemotherapy*, sub red. E. MIHIH, Academic Press, New York, Londra, 1967, 265.
PREHN R. T., MAIN J. M., J. Nat. Cancer Inst., 1957, *12*, 759.
SALAMAN H. M., Proc. royal Soc. Med., Londra, 1970, *63*, 11.
SCHIER W. W., New Engl. J. Med., 1954, *250*, 353.
SCHNECK S. A., PENN I., Lancet, 1971, *1*, 983.
SCHNEIDER M., Revu. franc. ét. Clin. Biol., 1969, *13*, 877.
SCHREK R., Arch. Path., 1967, *83*, 58.
SJÖGREN H. O., ANKERST J., Nature, Londra, 1969, *221*, 863.
SOKAL E. J., AUNGST W. C., Cancer, 1969, *24*, 128.
STEWARD T. H. M., Cancer, 1969, *23*, 1, 380.
SYMES M. O., Proc. royal Soc. Med., 1970, *63*, 135.
SYMES M. O., RIDDELL G. A., IMMELMAN J. E., TERBLANCHE J., Lancet, 1968, *1*, 1 054.
TAKASUGI M., HILDEMANN W. H., J. Nat. Cancer Inst., 1969, *43*, 843.
TAKASUGI M., KLEIN E., Immunology, 1971, *21*, 675.
UHR W. J., MÖLLER G., în *Advances in Immunology*, sub red. F. J. DIXON și H. G. KUNKEL, Academic Press, New York — Londra, 1968, *8*, 81.
WALDMANN A. TH., STROBER W., BLAESE M. R., Ann. Int. Med., 1972, *77*, 605.
WOOD C. W., MORTON L. D., Science, 1970, *170*, 1 318.

Scanned with OKEN Scanner



Redactor ECATERINA GHICA
Tehnoredactor PETRU BRUMĂ

Bun de tipar 27.12.1974. Tiraj 2000 ex. Hîrtie scris I A tratată cu 83% grad alb, format 16/70×100 de 70 G/m². Coli de tipar 28,75. Planşe 6.

C.Z. pentru biblioteci mari { 576.8.097.3 (082)
612.017 (082)
616.056.3 (082)
615.37 (082)

C.Z. pentru biblioteci mici 576.8.097.

c. 410 — I. P. „Informaţia"
str. Brezoianu nr. 23—25 — Bucureşti.